

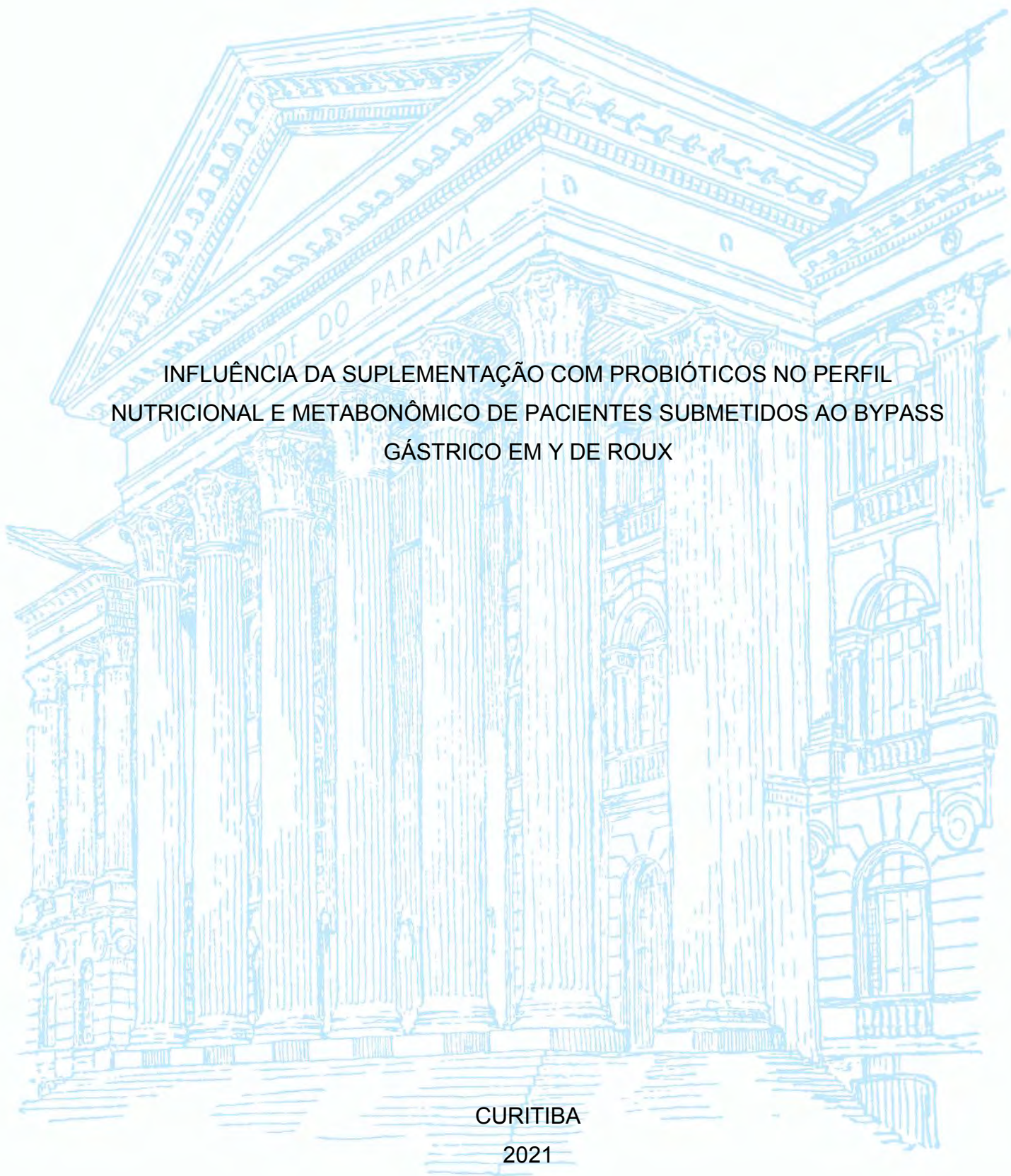
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARÍLIA RIZZON ZAPAROLLI

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS NO PERFIL
NUTRICIONAL E METABÔNOMICO DE PACIENTES SUBMETIDOS AO BYPASS
GÁSTRICO EM Y DE ROUX

CURITIBA

2021



MARÍLIA RIZZON ZAPAROLLI

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS NO PERFIL
NUTRICIONAL E METABÔNOMICO DE PACIENTES SUBMETIDOS AO BYPASS
GÁSTRICO EM Y DE ROUX

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde
da Universidade Federal do Paraná, como requisito
parcial para obtenção do Grau de Doutor em Clínica
Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki
Campos

Co-orientador: Profa. Dra. Ingrid Felicidade

CURITIBA

2021

Z36 Ramos, Marília Rizzon Zaparolli

Influência da suplementação com probióticos no perfil nutricional e metabonômico de pacientes submetidos ao bypass gástrico em Y de Roux [recurso eletrônico] / Marília Rizzon Zaparolli Ramos. – Curitiba, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos.

Coorientadora: Profa. Dra. Ingrid Felicidade.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. Bypass gástrico em Y de Roux. 2. Derivação gástrica.
3. Anastomose em Y- de Roux. 4. Probióticos. 5. Cirurgia bariátrica
6. Metabonômica. I. Campos, Antônio Carlos Ligocki. II. Felicidade, Ingrid. III. Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

NLMC: WI 980

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA
JORDÃO CRB 9/991



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA (CLÍNICA
CIRÚRGICA) - 40001015018P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA (CLÍNICA CIRÚRGICA) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MARILIA RIZZON ZAPAROLLI** intitulada: **INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS NO PERFIL NUTRICIONAL E METABOLÔNICO DE PACIENTES SUBMETIDOS AO BYPASS GÁSTRICO EM Y DE ROUX**, sob orientação do Prof. Dr. ANTONIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 30 de Junho de 2021.

Assinatura Eletrônica
01/07/2021 14:46:12.0
ANTONIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
01/07/2021 14:18:54.0
LETICIA FUGANTI CAMPOS
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
05/07/2021 15:35:05.0
MARCO AURELIO SANTO
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO)

Assinatura Eletrônica
01/07/2021 12:07:38.0
MARCIA REGINA MESSAGGI GOMES DIAS
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR)

Assinatura Eletrônica
06/07/2021 15:39:38.0
INGRID FELICIDADE
Avaliador Externo (UNESP)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, sobretudo, a Deus pelo dom da vida e pela oportunidade de realizar mais um sonho ao receber esta titulação. Por ter me guiado em todos os momentos, mostrando-se onipresente e onipotente.

Aos meus pais (Celso e Jaqueline), minha avó (Elena), minha irmã (Angela), meu cunhado (Alex), minha sobrinha/afilhada (Lívia) e meu marido (Paulo) pelo amor e apoio incondicional.

Aos meus filhos, Helena e Henrique, nascidos durante este período de doutorado. Obrigada por trazerem alegria aos meus dias, tornando-me completa. Dedico esta conquista a vocês, meus amores.

Ao meu orientador, Dr. Antônio Carlos Campos, por todos os ensinamentos, dedicação e amizade. Obrigada por cumprir sua missão como orientador com excelência.

À minha co-orientadora, Dra. Ingrid Felicidade, pela colaboração no desenvolvimento da pesquisa. Obrigada pela sua amizade, cuidado e carinho. Sou grata por ter participado da fase mais linda da sua vida: o nascimento do Francisco. Desde o ventre, nossos filhos puderam sentir o carinho que temos uma com a outra.

Às minhas colegas de pesquisa e amigas: Lígia, Nathália, Magda, Maria Clara, Carolina e Telma, as quais não mediram esforços para que esta pesquisa fosse concluída com sucesso. Para vocês, deixo uma citação de Charles Chaplin: “Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra. Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só, porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso”.

Aos estagiários, pela dedicação no período da coleta de dados. Obrigada pelo cuidado e postura ética que vocês tiveram com nossos pacientes.

Ao amigo André Di Donatto, por ter aberto as portas para a realização da pesquisa. Obrigada por estar sempre presente.

Aos colaboradores e professores do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Estadual de Londrina, por permitirem a realização das análises. Agradecimento especial à Fernanda e ao Thiago, pela imensurável colaboração e parceria nas análises.

Ao Professor Dr. Cesar Taconelli, por toda colaboração e dedicação na análise estatística.

Ao Dr. Ricardo Fernandes, professor na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados, por compartilhar seu conhecimento e experiência na área da microbiota intestinal e cirurgia bariátrica.

À *Bariatric Advantage* e Farmácia Dermatológica, nossos parceiros no fornecimento dos probióticos e placebo.

Aos nossos pacientes pela compreensão da importância da pesquisa clínica ao aceitar participar da pesquisa.

Aos cirurgiões bariátricos da Santa Casa de Misericórdia de Curitiba – PR por nos auxiliarem com o recrutamento dos pacientes e coleta de dados.

Aos amigos e colegas de trabalho pela torcida, apoio e amizade durante esta fase.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná por permitir a realização deste sonho.

RESUMO

As alterações anatômicas e fisiológicas após o Bypass Gástrico em Y de Roux (BGYR) podem desregular a microbiota intestinal por prejudicar a proliferação de espécies microbianas importantes para a manutenção da barreira intestinal e, conseqüentemente, suas ações metabólicas. Portanto, a administração de probióticos, por via oral, pode ser uma estratégia eficaz para garantir a eubiose intestinal e melhorar os resultados cirúrgicos. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação com probióticos no perfil nutricional e metabólico de pacientes no pós-operatório precoce de BGYR. Trata-se de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. Os pacientes receberam suplemento probiótico (FloraVantage® - 5 bilhões de *Lactobacillus acidophilus* NCFM® e 5 bilhões de *Bifidobacterium lactis* Bi-07®) ou placebo (comprimido manipulado inerte consistindo de amido e 190 mg de lactose) por três meses consecutivos, iniciando 7 dias após a cirurgia. Parâmetros antropométricos, índices bioquímicos e metabólitos plasmáticos foram avaliados no período pré-operatório (T0), aos 45 dias (T1) e 90 dias (T2) do período pós-operatório / intervenção. Após o BGYR, foi observada redução significativa dos parâmetros antropométricos e do perfil glicêmico ($p < 0.05$) em ambos os grupos, independentemente da suplementação com probióticos. No entanto, os níveis de triglicerídeos mostraram redução significativa apenas no grupo probiótico ($p < 0.001$). Além disso, a suplementação com probióticos contribuiu para o aumento significativo nos níveis séricos de 25 (OH) vitamina D ($p = 0.004$) e níveis mais elevados de vitamina B12 ($p = 0.063$) no período pós-operatório. Em relação à análise dos metabólitos plasmáticos, foi possível identificar várias alterações associadas à intervenção. Aminoácidos de Cadeia Ramificada (BCAA) (valina, leucina e isoleucina), N-óxido de trimetilamina (TMAO), lactato, acetato, glicose, alanina, lipídios, β -hidroxibutirato (BHB) e acetoacetato foram os metabólitos que mudaram em comparação ao grupo placebo. A redução nos níveis de TMAO e alanina foi maior no grupo probiótico (TMAO 13.82%, $p = 0.01$ e alanina 14.03%, $p = 0.03$) em T2. Ainda, os níveis de BHB aumentaram 10.77% no grupo probiótico ($p = 0.03$) em comparação ao grupo placebo em T2. A suplementação com *Lactobacillus acidophilus* NCFM e *Bifidobacterium lactis* Bi-07 no período pós-operatório precoce de BGYR melhora o perfil vitamínico e lipídico, bem como promove diferenças significativas em metabólitos plasmáticos associados à melhora da saúde metabólica.

Palavras-chave: Bypass gástrico em Y de Roux. Probióticos. Cirurgia bariátrica. Metabonômica.

ABSTRACT

The anatomical and physiological changes after Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) can dysregulate the microbiota by impairing the proliferation of microbial species important for maintaining the intestinal barrier and metabolic actions. Oral probiotics administration could be an effective strategy to achieve intestinal eubiosis and improve the surgical results. The aim of this study was to evaluate the effects of probiotics supplementation on the nutritional and metabolic profile of patients in the early postoperative period after RYGB. This is a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Patients were assigned to receive either a probiotic supplement (FloraVantage® - 5 billion *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and 5 billion *Bifidobacterium lactis* Bi-07®) or placebo (inert manipulated tablet consisting of starch and 190 mg of lactose) for three consecutive months, beginning 7 days after surgery. Anthropometric parameters, biochemical indexes and plasma metabolites were evaluated at the preoperative period (T0) and at 45 days (T1) and 90 days (T2) of continuous ingestion of either probiotics or placebo. Following RYGB, a significant reduction in the anthropometric parameters and glycemic profile ($p < 0.05$) was observed in both groups, regardless of probiotic supplementation. However, triglyceride levels showed a significant reduction in the probiotic group only ($p < 0.001$). In addition, probiotic supplementation contributed to a significant increase in the serum 25-OH vitamin D ($p = 0.004$) and higher levels of vitamin B12 ($p = 0.063$) in the postoperative period. Regarding the plasma metabolites analyses, several significant changes were observed. Branched chain amino acids (BCAA) (valine, leucine and isoleucine), trimethylamine N-oxide (TMAO), lactate, acetate, glucose, alanine, lipids, β -hydroxybutyrate (BHB) and acetoacetate were the metabolites that changed as compared to the placebo group. Reduction in TMAO and alanine levels was greater in the probiotic group at T2 (TMAO 13.82%, $p = 0.01$ and alanine 14.03%, $p = 0.03$). Additionally, BHB levels increased 10.77% in the probiotic group ($p = 0.03$) as compared to the placebo group at T2. In conclusion, supplementation with *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 in the early postoperative period after RYGB improves the vitamin and lipid profile, as well as promotes significant changes in several relevant plasma metabolites associated with improved in metabolic health.

Keywords: Roux-en-Y Gastric Bypass. Probiotics. Bariatric Surgery. Metabonomics.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% EWL - *Percentage Excess Weight Loss*

%PEP - Percentual de Perda de Excesso de Peso

ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica

AGCC - Ácidos Graxos de Cadeia Curta

AMPK - Proteína quinase ativada por Monofosfato de Adenosina

ATP - Trifosfato de adenosina

BCAA - Aminoácidos de Cadeia Ramificada

BCAAs - *Branched Chain Amino Acids*

BCCATm - *Human Mitochondrial Branched-chain Aminotransferase*

BGYR - Bypass Gástrico em Y de Roux

BHB - β -hidroxibutirato

BMI - *Body Mass Index*

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

CFM - Conselho Federal de Medicina

CLA - Ácido Linoléico Conjugado

CNS - Conselho Nacional de Saúde

CPMG - *Carr-Purcell-Meiboom-Gill*

DHGNA - Doença hepática gordurosa não alcoólica

EP- Excesso de Peso

FA- Ferulic Acid

FAO - *Food and Agriculture Organization*

FBS - *Fasting Blood Sugar*

FFAs - *Free Fatty Acids*

FIAF - Fator Adiposo Induzido pelo Jejum

FXR - *Bile Acid Receptor*

GLP-1 - Glucagon-like Peptide – 1

HbA1c - Hemoglobina glicada ou *Glycated hemoglobin*

HDL-C - Lipoproteína de Alta Densidade ou *High-Density Lipoprotein Cholesterol*

HOMA-IR - Modelo de homeostase de resistência à insulina ou *Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance*

IFSO - *International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders*

IMC - Índice de Massa Corporal

LBP - Proteína de Ligação a lipopolisacarídeo

LDL-C - Lipoproteína de Baixa Densidade ou *Low-density Lipoprotein Cholesterol*

LPS - Lipossacarídeos

MCP-1 - Proteína quimiotática de monócitos 1

NaCl - Cloreto de sódio

OAGB-MGB - *One Anastomosis Gastric Bypass-Mini Gastric Bypass*

PCR - Proteína C-reativa PCR

PUCPR - Pontifícia Universidade Católica do Paraná

PYY - Peptide YY

QUICKI - Índice Quantitativo de Verificação de Sensibilidade à Insulina ou *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*

ReBEC - Registros Brasileiros de Ensaio Clínicos

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

RYGB - *Roux en Y Gastric Bypass*

SBCBM - Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica

SCFA's - *Short-chain Fatty Acids*

SE - *Standard Error*

SGI - Sintomas Gastrointestinais

SIBO - *Small Intestine Bacterial Overgrowth*

SISVAN - Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional

SUS - Sistema Único de Saúde

T0 - período pré-operatório

T1 - 45 dias do período pós-operatório / intervenção

T2 - 90 dias do período pós-operatório / intervenção

T2D - Type 2 diabetes

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TMA - *Trimethylamine*

TMAO - N-óxido de trimetilamina

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa TNF- α .

UFC - Unidades Formadoras de Colônia

VDR - Vitamin D receptor

VIGITEL - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

WC - *Waist Circumference*

WHO - *World Health Organization*

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 JUSTIFICATIVA..... | 17 |
| 3 OBJETIVOS..... | 18 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL | 18 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 18 |
| 4 REVISÃO DE LITERATURA | 19 |
| 4.1 OBESIDADE E CIRURGIA BARIÁTRICA | 19 |
| 4.2 MICROBIOTA INTESTINAL | 21 |
| 4.2.1 Microbiota intestinal na obesidade e cirurgia bariátrica | 23 |
| 4.3 PROBIÓTICOS | 25 |
| 4.3.1 Probióticos: definição, mecanismos de ação e efeitos benéficos à saúde humana..... | 25 |
| 4.3.2 Probióticos e BGYR | 27 |
| 4.4 APLICAÇÃO DA METABONÔMICA EM CIRURGIA BARIÁTRICA E INTERVENÇÕES COM PROBIÓTICOS | 29 |
| 5 MATERIAL E MÉTODO..... | 32 |
| 5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO | 32 |
| 5.2 ASPECTOS ÉTICOS..... | 32 |
| 5.3 AUTORIZAÇÃO | 32 |
| 6 AMOSTRA E COLETA DE DADOS | 33 |
| 6.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO | 33 |
| 6.2 CAPTAÇÃO DA AMOSTRA | 33 |
| 6.3 RANDOMIZAÇÃO E TRATAMENTO | 33 |
| 6.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO | 34 |
| 6.5 ORIENTAÇÃO DIETÉTICA | 34 |
| 6.6 COLETA DE DADOS | 35 |
| 6.7 DADOS CLÍNICOS E SOCIODEMOGRÁFICOS | 35 |
| 6.8 DADOS ANTROPOMÉTRICOS | 36 |
| 6.9 DADOS BIOQUÍMICOS | 37 |
| 6.10 ANÁLISE DOS METABÓLITOS PLASMÁTICOS: METABONÔMICA | 38 |
| 7 ARTIGOS CIENTÍFICOS | 40 |
| 7.1 ARTIGO 1..... | 40 |

| | |
|---|------------|
| 7.2 ARTIGO 2..... | 60 |
| 8 CONCLUSÕES | 74 |
| 8.1 CONCLUSÃO GERAL | 74 |
| 8.2 CONCLUSÕES ESPECÍFICAS..... | 74 |
| REFERÊNCIAS..... | 75 |
| ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA..... | 90 |
| ANEXO 2 – PROTOCOLO DA EVOLUÇÃO DA DIETA E SUPLEMENTAÇÃO | 92 |
| APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) | 99 |
| APÊNDICE 2 – AUTORIZAÇÃO DO HOSPITAL | 102 |

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas 40 décadas (1975 a 2016), houve aumento expressivo de indivíduos com excesso de peso, fato que tornou a obesidade uma epidemia mundial e, conseqüentemente, um grave problema de saúde pública (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020a; VASILEVA et al., 2018).

Em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos apresentavam sobrepeso. Destes, mais de 650 milhões eram obesos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020a). Se a tendência de crescimento observada nas últimas estatísticas continuar, em 2030, estima-se que o excesso de peso atingirá mais de 50% da população mundial (FINKELSTEIN, et al., 2012). Ainda, dados mostram que 2,8 milhões de pessoas morrem a cada ano devido ao excesso de peso ou obesidade (HEALTH ORGANIZATION, 2020b).

No Brasil, dados do último estudo de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico mostraram que 55,4% da população brasileira apresenta excesso de peso e que a prevalência da obesidade aumentou de 11,8% em 2006 para 20,3% em 2019. Foram observados, ainda, aumentos nos casos de diabetes mellitus (5,5% em 2006 para 7,4% em 2019) e hipertensão arterial sistêmica (22,6% em 2006 para 24,5% em 2019) (VIGITEL, 2019; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Concomitante ao aumento de casos de obesidade, houve aumento na realização de cirurgia bariátrica, por ser considerada o tratamento mais eficaz para indivíduos com obesidade mórbida ou com comorbidades associadas (INTERNATIONAL FEDERATION FOR THE SURGERY OF OBESITY AND METABOLIC DISORDERS, 2018; BENAIGES et al., 2015). Dados da Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica (SBCBM, 2019) mostraram que no período entre 2011 e 2018 foram realizadas aproximadamente 424 mil cirurgias no país, representando um crescimento de 84,73%. No âmbito de Sistema Único de Saúde (SUS), durante o mesmo período, houve crescimento de 339%, ou seja, em 2008 foram realizadas 3.195 cirurgias, enquanto que em 2018, 10.852 pacientes foram submetidos ao procedimento, sendo a técnica Bypass Gástrico em Y de Roux (BGYR) a mais utilizada. A Região Sul do país apresentou o maior aumento de cirurgias realizadas (56%), seguida da Região Sudeste (34%) (TONATTO-FILHO et al., 2019).

A técnica do BGYR induz a rápida e significativa perda de peso, associada à melhora da saúde metabólica, com elevados índices de remissão de comorbidades, redução de parâmetros inflamatórios e nível de adiposidade (BUCHWALD et al., 2004; NEFF et al., 2015). Alguns mecanismos responsáveis por esses benefícios já estão muito bem elucidados na literatura, tais como: modificação na secreção de hormônios associados à regulação do apetite e metabolismo, restrição alimentar, modificações e intolerâncias alimentares, além do rearranjo anatômico do trato gastrointestinal (JORGENSEN et al., 2013; LE ROUX, 2006; PALLEJA et al. 2016). Entretanto, estudos recentes têm sugerido um novo mecanismo: a composição da microbiota intestinal, a qual é composta por grandes populações de microorganismos que exercem diferentes funções, influenciando a regulação energética assim como a resposta imunológica, inflamatória e metabólica do hospedeiro (ABENAVOLI, 2019; LIOU et al., 2013; TREMAROLI et al, 2015).

Nesse sentido, já é sabido que após BGYR há modificação da composição da microbiota intestinal, especialmente devido às alterações anatômicas e fisiológicas no trato gastrointestinal (EJTAHED et al., 2018; ZHANG et al., 2009). Apesar do aumento na diversidade microbiana, particularmente nos primeiros três meses após a cirurgia é importante destacar que o aumento do pH e oxigênio no lúmen intestinal colabora com a desregulação da microbiota, prejudicando a proliferação de espécies bacterianas importantes para a manutenção da barreira intestinal e ações metabólicas, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (PALLEJA, A. et al., 2016; BERNARDEAU et al., 2008; RUSSELL et al., 2011).

Considerando o fato de que a composição da microbiota intestinal interfere na interação e sinalização metabólica e imunológica do hospedeiro, intensificou-se a busca pelo aprimoramento ou modulação da microbiota intestinal, como uma terapia alternativa promissora na prevenção da obesidade e doenças metabólicas (NICHOLSON et al., 2012; NICHOLSON et al., 2005). Até o momento, transplante fecal, suplementação de prebióticos e probióticos, assim como intervenções dietéticas são as principais estratégias utilizadas nesse processo (BOULANGÉ et al., 2016).

Portanto, a suplementação com probióticos pode contribuir para o equilíbrio entre as cepas bacterianas e melhores resultados bioquímicos e metabólicos após BGYR (LEE et al., 2018). Diversos mecanismos, muitos ainda pouco elucidados, justificam o potencial dos probióticos na saúde do hospedeiro. Entre eles, destacam-se: influência na atividade enzimática, síntese de vitaminas, alterações nas

expressões de genes e produção de metabólitos que impactam benéficamente a saúde humana (MATEUSZ et al., 2020; SIVAMARUTHI et al., 2019). Apesar do crescente interesse da comunidade científica em relação aos benefícios dos probióticos em diferentes situações clínicas, os ensaios clínicos em cirurgia bariátrica são escassos e os resultados diferem entre si (FERNANDES, et al. 2016; WOODARD et al., 2009; WAGNER et al., 2020; KARBASCHIAN et al., 2018; MOKHTARI et al., 2019). Ao avaliarem a influência de probióticos nos parâmetros antropométricos após a cirurgia bariátrica, Karbashian et al. (2018) e Mokhtari et al. (2019) verificaram maior perda de peso e melhora dos parâmetros inflamatórios no grupo probiótico, entretanto o estudo de Fernandes et al. (2016) não observou alterações nesses parâmetros após a suplementação. Essa discrepância pode estar associada à heterogeneidade metodológica, assim como efeito específico das cepas bacterianas utilizadas, reforçando a necessidade de novos estudos (KARBASCHIAN et al., 2018).

2 JUSTIFICATIVA

Considerando os possíveis efeitos da cirurgia BGYR na microbiota intestinal; o uso de probióticos como ferramenta útil para reestabelecer o equilíbrio intestinal; a heterogeneidade e escassez de estudos que avaliaram a influência da combinação de cepas específicas de *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus* NCFM) e *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium lactis* Bi-07) nos parâmetros nutricionais e metabólicos de pacientes em pós-operatório precoce de BGYR, fez-se necessário a realização desse ensaio clínico.

Além disso, o conhecimento resultante das respectivas análises realizadas poderá contribuir para a elaboração de protocolos clínicos, garantindo melhores resultados cirúrgicos e qualidade de vida para os pacientes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da suplementação com probióticos no perfil nutricional e metabólico de pacientes no pós-operatório precoce de Bypass Gástrico em Y de Roux.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analisar os efeitos da suplementação com probióticos nos parâmetros antropométricos e níveis séricos de vitamina D, B12 e ácido fólico;
- b) Verificar alterações induzidas pelo uso de probióticos no perfil glicêmico e lipídico;
- c) Estudar a influência da suplementação com probióticos no perfil de metabólitos plasmáticos.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 OBESIDADE E CIRURGIA BARIÁTRICA

Obesidade é definida como uma desordem complexa e multifatorial, caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, contribuindo para o aumento de distúrbios metabólicos, redução da qualidade e expectativa de vida, além do aumento dos gastos públicos em saúde (WHO, 2018a, 2019; ENGIN, 2017).

Desde 1980, a prevalência mundial de excesso de peso e obesidade dobrou, atingindo um terço da população mundial. Esse expressivo aumento nos índices de obesidade foi verificado em adultos e crianças de todas as idades, independente da localidade, etnia ou status socioeconômico. (CHOOI et al., 2019).

Embora o fator etiológico mais comum da obesidade seja o desequilíbrio crônico entre ingestão alimentar excessiva e redução do gasto energético, sabe-se que sua etiologia é multifatorial, englobando a interação entre fatores genéticos, fisiológicos, ambientais, socioeconômicos e comportamentais (ARONNE et al., 2009).

Entre os diversos fatores associados ao aumento de indivíduos com obesidade destacam-se: modificações no padrão alimentar, redução dos níveis de atividade física, privação de sono, aumento de exposição a disruptores endócrinos, efeitos intrauterinos, efeitos colaterais de medicamentos e aumento de genótipos predisponentes à obesidade (WRIGHT; ARONNE, 2012). Atualmente, há evidências de que a microbiota intestinal e seu respectivo microbioma impactam no desenvolvimento da obesidade, devido ao seu papel na regulação do metabolismo energético e depósito de gordura corporal, atuação no controle de absorção e utilização de nutrientes (GÉRARD, 2016).

Diante da complexidade da etiologia da obesidade, o tratamento e manutenção da perda de peso é um processo amplamente desafiador. As abordagens terapêuticas mais recentes reportadas na literatura englobam estratégia farmacológica, com desenvolvimento de drogas atuantes nas mais diversificadas vias metabólicas e regulatórias; modificações comportamentais; estratégias de suplementação com probióticos e procedimentos cirúrgicos, como a cirurgia bariátrica (JACKSON et al., 2015; THOMPSON et al., 2007).

Estima-se que apenas 5% dos obesos mórbidos submetidos ao tratamento clínico (farmacoterapia associada a modificações no estilo de vida) perdem peso de maneira eficaz e que 90% apresentam reganho de peso (BETTINI; BETTINI, 2018). Nesses casos, a cirurgia bariátrica tem sido considerada o tratamento mais eficaz e duradouro (ENGLISH; WILLIAMS, 2018). Entretanto, o sucesso cirúrgico depende de alguns elementos chaves como: seleção adequada de pacientes, seguindo os critérios de indicação, além de avaliação pré-operatória e acompanhamento pós-operatório por equipe multidisciplinar (SCHLOTTMANN; BUXHOEVEDEN, 2018).

O Brasil é o segundo país em que mais se realiza cirurgia bariátrica, perdendo apenas para os Estados Unidos da América. Dados da SBCBM (2018) mostram que, no Brasil, existem aproximadamente 13,6 milhões de indivíduos obesos elegíveis para cirurgia bariátrica, e que no período de 2011-2018 houve aumento de 84,73% nas cirurgias realizadas no país, sendo a maior parte ainda realizada por planos de saúde privados (saúde suplementar) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABÓLICA, 2018).

A Resolução nº 1.766/05, do Conselho Federal de Medicina (CFM, 2005) foi a responsável pela normatização do tratamento cirúrgico da obesidade no Brasil, estabelecendo critérios de indicação, assim como técnicas cirúrgicas aprovadas com respaldo científico, riscos e benefícios estabelecidos. Em 2015, a publicação da Resolução nº 2.131/15, aumentou o rol de comorbidades associadas à obesidade dentre os critérios cirúrgicos (CFM, 2015). Adicionalmente, em 2017, a Resolução n. 2.172 regularizou a indicação de cirurgia metabólica para o tratamento de pacientes com diagnóstico de *diabetes mellitus* tipo 2 (CFM, 2017). Em relação às técnicas cirúrgicas, no Brasil, são aprovadas quatro técnicas de cirurgia bariátrica: BGYR, Banda gástrica ajustável, Gastrectomia vertical - Sleeve e Duodenal Switch. Em casos de cirurgia metabólica, há recomendação de se utilizar prioritariamente a técnica BGYR. (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABOLICA, 2019b).

Dados da *International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders* (IFSO, 2018) mostraram aumento na realização da Gastrectomia Vertical, assumindo posição de destaque juntamente com BGYR no padrão cirúrgico mundial. No Brasil, BGYR permanece sendo a técnica mais utilizada, representando 75% do total das cirurgias realizadas e 97% do total de cirurgias bariátricas realizadas na rede pública (TONATTO-FILHO et al., 2019). Essa técnica é classificada como mista devido

seu potencial restritivo e disabsortivo. Nesse procedimento, são realizados grampeamento e exclusão parcial do estômago, reduzindo a capacidade gástrica, bem como realização de desvio do intestino proximal, o que contribui para a disabsorção e é responsável pela modificação da secreção de hormônios intestinais que controlam fome e saciedade. Com esse procedimento cirúrgico, espera-se perda de 70% a 80% do excesso de peso inicial e remissão de comorbidades. (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABOLICA, 2019b).

4.2 MICROBIOTA INTESTINAL

O interesse pelo estudo da microbiota intestinal (microorganismos presentes no intestino humano), assim como pelo microbioma (genomas coletivos dos microorganismos em um ambiente específico) e seus respectivos papéis na saúde humana, tem aumentado nas últimas décadas (VALDES et al., 2018).

Com o avanço tecnológico e aprimoramento de técnicas que permitem a análise do material genético microbiano intestinal, foi possível identificar bactérias vivas ao longo de todo o trato gastrointestinal. Sabe-se que um indivíduo saudável possui aproximadamente 100 trilhões de microorganismos (bactérias, vírus, fungos e protozoários) formadores do microbioma do trato gastrointestinal. Além disso, foi identificado que o microbioma humano codifica mais de três milhões de genes, contribuindo para secreção de diversos metabólitos que podem afetar a regulação fisiológica do organismo (VALDES et al., 2018; PEREIRA; GOUVEIA, 2019).

O intestino humano apresenta ampla relação com o sistema neuronal, hormonal e imunológico. O sistema gastroenterohepático secreta mais de 20 hormônios já identificados, enquanto o sistema imunológico intestinal contém 70-80% das células imunológicas do organismo humano. Diante disso, o intestino humano tem sido reconhecido como um órgão endócrino, envolvido no metabolismo energético e na imunidade do hospedeiro (FURNESS et al. 1999; GOMES et al., 2018).

A colonização do trato gastrointestinal e consequente formação da microbiota intestinal se iniciam ao nascimento, diferenciando-se entre os indivíduos ao longo da vida, uma vez que sofre alterações pela exposição a diversos fatores como dieta, estilo de vida, utilização de medicamentos, alterações anatômicas e fisiológicas do trato gastrointestinal (ABENAVOLI et al. 2019). Essas modificações na microbiota intestinal podem alterar a interação entre bactéria e hospedeiro, contribuindo para o

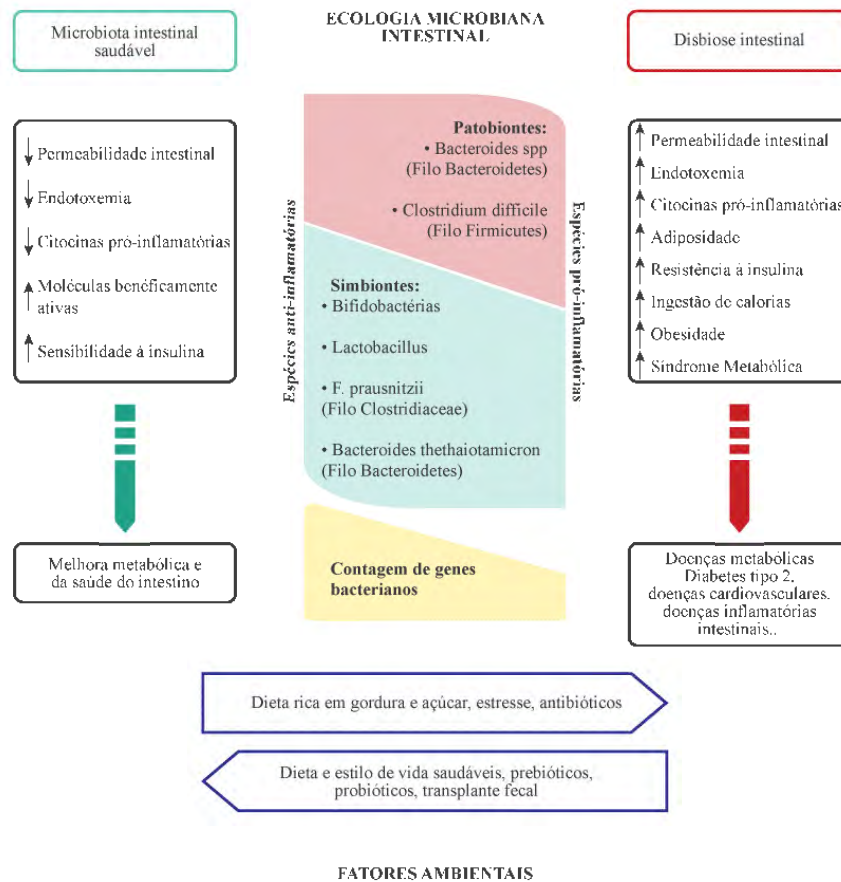
desenvolvimento de inflamação crônica de baixo grau, obesidade e doenças metabólicas (PALLEJA et al., 2016; GOMES et al., 2018).

A microbiota intestinal saudável é composta, na sua maioria, por espécies anaeróbicas, pertencentes a dois filos: Firmicutes e Bacteroidetes. Embora ainda controversos, estudos têm mostrado que o desequilíbrio entre esses dois filos pode contribuir para disbiose intestinal e predisposição a doenças. Outros filos, como Proteobacteria, Actinobacteria e Fusobacteria também participam da composição da microbiota intestinal, entretanto em menor número (GÉRARD, 2016; RINNINELLA et al. 2019).

Grupos bacterianos como Bacteroides, Roseburia, Bifidobacterium, Faecalibacterium e Enterobacteria são os principais fermentadores de carboidratos e produtores de ácidos graxos de cadeia curta; enquanto espécies bacterianas dos filos Firmicutes e Actinobacteria são produtoras de ácido linoléico conjugado (CLA), responsável por aumentar o metabolismo e gasto energético, contribuindo para diminuição da lipogênese e aumento da lipólise. Além disso, realizam outras funções como síntese de vitaminas, metabolização de toxinas dietéticas e substâncias carcinogênicas (GÉRARD; BERNALIER-DONADILLE, 2007; GÉRARD, 2016).

O equilíbrio entre filos, gêneros e espécies bacterianas é fundamental na garantia da relação de simbiose com o hospedeiro, já que a diversidade de bactérias no trato gastrointestinal resulta em ampla interação com as atividades bioquímicas e metabólicas do organismo do hospedeiro (GOMES et al., 2018; GÉRARD, 2016). A relação entre microbiota intestinal saudável, disbiose e saúde humana são descritos na imagem abaixo:

FIGURA 1 - EFEITOS DA MICROBIOTA INTESTINAL SAUDÁVEL E DA DISBIOSE INTESTINAL NA SAÚDE DO HOSPEDEIRO



FONTE: ADAPTADO DE BOULANGÉ et al. (2016).

4.2.1 Microbiota intestinal na obesidade e cirurgia bariátrica

Diversas interações metabólicas entre microbiota intestinal e hospedeiro contribuem para o desenvolvimento da obesidade e síndrome metabólica. Entre essas, destacam-se: maior extração de energia proveniente da dieta; alteração da digestão de polissacarídeos; redução na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e consequente influência na secreção de *Glucagon-like Peptide – 1* (GLP-1); aumento nos níveis de triglicerídeos nos adipócitos devido à inibição do fator adiposo induzido pelo jejum (FIAF) e da ação da lipase do tecido adiposo e inibição da proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK), com consequente regulação negativa da oxidação dos ácidos graxos, cetogênese e secreção de insulina (BOULANGÉ et al., 2016; MIRAGHAJANI et al., 2017; BACKHED et al., 2004; WINDER; HARDIE, 1999).

Evidências científicas mostram que, ao serem comparados com indivíduos eutróficos, obesos apresentam menor diversidade na composição da microbiota intestinal, maior abundância de bactérias fermentadoras de carboidratos, assim como bactérias gram-negativas, o que contribui para maior extração de energia proveniente da dieta e aumento do depósito de glicose e lipídios (GOMES et al., 2018). Estudos experimentais observaram que camundongos *germ-free* apresentaram menor teor de gordura corporal e menor ganho de peso, além de proteção à resistência à insulina induzida pela dieta, quando comparados a camundongos convencionais, embora consumissem mais calorias diárias. (BOULANGÉ et al., 2016). Além disso, há aumento da permeabilidade intestinal, a qual permite passagem de endotoxinas bacterianas como lipossacarídeos (LPS), as quais ativam cascatas de síntese e liberação de citocinas inflamatórias, gerando inflamação de baixo grau, característica da obesidade e síndrome metabólica (GOMES et al., 2018; BOULANGÉ et al., 2016).

Apesar da divergência entre publicações, alguns estudos sugerem que indivíduos obesos apresentam alterações na proporção entre Firmicutes e Bacteroidetes, havendo predominância dos Firmicutes (GOMES et al., 2018; SÁNCHEZ-ALCOHOLADO et al., 2019). Dados de um ensaio clínico mostraram que aumento de 20% no filo Firmicutes associou-se à extração energética maior, além de estar associado com aumento de gordura corporal do hospedeiro (JUMPERTZ et al., 2011).

Devido às alterações anatômicas e fisiológicas da cirurgia bariátrica, independente da técnica cirúrgica utilizada, sugere-se que ocorram diversas alterações na microbiota intestinal, o que pode influenciar nos resultados cirúrgicos, especialmente aqueles associados ao perfil metabólico (SÁNCHEZ-ALCOHOLADO et al., 2019). Estudo realizado por Liou et al. (2013) mostrou que após 1 semana da realização do procedimento cirúrgico, já foi possível observar alterações na microbiota intestinal.

Entre as modificações da microbiota intestinal após BGYR, as mais citadas na literatura são: aumento na riqueza de espécies bacterianas, redução do filo Firmicutes e aumento dos filos Bacteroidetes e Proteobacteria, os quais têm sido associados a maior perda de peso e melhora do perfil metabólico, como redução da resistência à insulina (FIGURA 2) (DEBÉDAT et al., 2019).

Por outro lado, é importante ressaltar que as modificações do trato gastrointestinal induzidas pelo BGYR, principalmente o aumento do oxigênio e pH

intestinal, podem prejudicar a presença e ação da *Lactobacillus* e *Bifidobacterias* importantes para manutenção da barreira intestinal e saúde humana (BERNARDEAU et al., 2008; RUSSELL et al., 2011).

FIGURA 2 - INFLUÊNCIA DAS PRINCIPAIS MODIFICAÇÕES NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL INDUZIDAS PELA CIRURGIA BARIÁTRICA NOS RESULTADOS CLÍNICOS



LEGENDA: Índice de massa corporal IMC, Proteína C-reativa PCR, hemoglobina glicada HbA1c, Modelo de homeostase de resistência à insulina HOMA-IR, proteína quimiotática de monócitos 1 MCP-1, fator de necrose tumoral alfa TNF-α.

FONTE: ADAPTADO DE DEBÉDAT et al. (2019).

4.3 PROBIÓTICOS

4.3.1 Probióticos: definição, mecanismos de ação e efeitos benéficos à saúde humana.

De acordo com a *Food and Agriculture Organization* (FAO) e *World Health Organization* (WHO), probióticos são definidos como "microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro". Podem ser incorporados em produtos alimentícios (comumente adicionados em laticínios) ou administrados como suplemento alimentar ou medicinal (FAO; WHO, 2001; HALL, 2014).

Os microrganismos pertencentes aos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Saccharomyces* são os mais utilizados em suplementos probióticos (PEREIRA; GOUVEIA, 2019). Segundo recomendações da *World Gastroenterology Organization* (WGO, 2017) a qualidade de um produto probiótico exige a inclusão, na sua formulação, de especificações como

manutenção de viabilidade (expressa pelas Unidades Formadoras de Colônias - UFC) até o fim da validade e o uso da nomenclatura atual para identificar gênero, espécie e cepa de todos os microorganismos presentes.

Devido aos diversos mecanismos de ação, probióticos têm sido considerados uma das estratégias mais eficazes para manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal, garantindo, assim, diversos efeitos benéficos em nível sistêmico (LEE et al., 2018). Entretanto, sua utilização na prática clínica deverá ser pautada em estudos clínicos conduzidos em seres humanos, considerando a associação entre cepas específicas utilizadas e benefícios encontrados (HALL et al., 2014).

O exato mecanismo de ação dos probióticos não está completamente elucidado (ISLAM, 2016), entretanto a literatura sugere alguns possíveis mecanismos de ação, tais como: competição ou eliminação de patógenos em nível intestinal; melhora da função da barreira epitelial intestinal; modulação da resposta imunológica inata e adaptativa do hospedeiro; produção de metabólitos importantes em diversos sistemas, assim como aumento dos AGCC, os quais influenciam a secreção de GLP-1 e consequente controle da saciedade e resistência à insulina (GAREAU et al., 2010; TREMAROLI, V.; BÄCKHED, 2012; LEBEER, S. et al., 2010)

Com o avanço dos estudos clínicos e experimentais na área de microbiota intestinal e probióticos, diversos benefícios começaram a ser associados ao uso de probióticos, englobando desde melhora de doenças do trato gastrointestinal até perda de peso e melhora de parâmetros metabólicos (ISLAM, 2016). Atualmente, os principais benefícios comprovados do uso de probióticos estão associados ao tratamento e prevenção de afecções do trato gastrointestinal, alterações hepáticas; infecções e alergias, diabetes mellitus, obesidade e síndrome metabólica (ISLAM, 2016; WGO, 2017; PLAUTH et al., 2019; KHALESİ et al., 2018; KANAZAWA et al., 2017; AKBARI; HENDIJANI, 2016; VRIEZE et al., 2012; BORGERAAS et al, 2018)

Cepas probióticas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, presentes na maior parte dos suplementos probióticos, têm sido alvo de diversos estudos, uma vez que são encontradas em todas as porções do trato gastrointestinal humano saudável (SAAD, 2006; SULLIVAN; NORD, 2002). Quando associadas, contribuem para a melhora do perfil glicêmico e lipídico, assim como perda de peso e redução da gordura corporal (FESTI et al., 2014).

É importante destacar que *Bifobacterium lactis* e *Lactobacillus acidophilus* são amplamente utilizadas, destacando-se entre as demais cepas desses gêneros

entretanto, não foram encontrados estudos que tivessem avaliado os efeitos da associação dessas cepas probióticas nos parâmetros nutricionais e metabólicos após cirurgia bariátrica (GOMES; MALCATA, 1999).

4.3.2 Probióticos e BGYR

Até o momento, ensaios clínicos conduzidos com pacientes submetidos ao BGYR ou técnicas similares e suplementados com probióticos são escassos. Os achados principais encontrados na literatura estão descritos no QUADRO 1 abaixo:

QUADRO 1 - ESTUDOS CLÍNICOS QUE AVALIARAM SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS EM CIRURGIA BARIÁTRICA

| Autoria/Referência | Objetivo | Metodologia | Achados principais |
|---|--|--|--|
| WOODARD, G. A. et al. Probiotics improve outcomes after roux-en-Y gastric bypass surgery: A prospective randomized trial. J Gastrointest Surg. , v. 13, p. 1198–1204, 2009. | Influência de probióticos nos SGI, supercrescimento bacteriano, níveis séricos de B12 e perda de peso. | Duplo-cego, randomizado 44 indivíduos submetidos ao BGYR Suplementação com 2,4 bilhões diários de Lactobacillus (Puritan's Pride®) 6 meses de intervenção | Houve melhora do supercrescimento bacteriano intestinal, além de maior perda de peso e níveis mais elevados de vitamina B12 no grupo probiótico. |
| CHEN J. C. et al. Effect of probiotics on postoperative quality of gastric bypass surgeries: a prospective randomized trial. Surgery for Obesity and Related Diseases , v. 12, p. 57-61, 2016. | Influência da administração de probióticos nos SGI. | Duplo-cego, randomizado 60 indivíduos submetidos ao BGYR com SGI Grupo probiótico A: 1 g Clostridium butyricum MIYAIRI, 2x ao dia Grupo probiótico B: Bifidobacterium longum BB536, 2 x ao dia Grupo Enzimas digestivas: Aczym, contendo 100 mg de takadiastase N, 20 mg celulase AP, 50 mg lipase MY e 100 mg pancreatina, 2x ao dia) 2 semanas de intervenção | A administração de probióticos contribuiu para melhora de SGI e qualidade de vida. |
| FERNANDES, R. et al. Effects of Prebiotic and Synbiotic Supplementation on Inflammatory Markers and Anthropometric Indices After Roux-en-Y Gastric Bypass. J Clin | Influência de prebióticos e simbióticos nos parâmetros antropométricos e inflamatórios. | Triplo-cego, randomizado, controlado por placebo Indivíduos submetidos ao BGYR (n=9) e indivíduos saudáveis (n=9) foram | Simbióticos não foram capazes de promover mudanças significativas nos marcadores |

| Autoria/Referência | Objetivo | Metodologia | Achados principais |
|--|--|---|--|
| Gastroenterol. , v. 50, p. 208–217, 2016. | | suplementados com 6g de placebo (maltodextrina), prebiótico (FOS), simbiótico (FOS + cepas de <i>Lactobacillus</i> e <i>Bifidobacteria</i>). Intervenção por 15 dias | inflamatórios e antropométricos. |
| WAGNER, N. R. F. et al. Effects of probiotics supplementation on gastrointestinal symptoms and SIBO after Roux-en-Y Gastric Bypass: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Obes Surg. , v. 31, p. 143-150, 2021. | Influência de probióticos nos SGI e SIBO. | Duplo-cego, randomizado, controlado por placebo 73 indivíduos submetidos ao BGYR Grupo placebo e grupo probiótico (<i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Bifidobacterium lactis</i> - 5 bilhões UFC/cepa – 2 tabletes/dia) Intervenção de 90 dias | A suplementação com probióticos não influenciou na SIBO, entretanto melhorou o SGI denominado “bloating”. |
| KARBASCHIAN, Z. et al. Probiotic Supplementation in morbid obese patients undergoing one anastomosis gastric Bypass-Mini Gastric Bypass (OAGB-MGB) surgery: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. Obes Surg. , v. 28, p. 2874–2885, 2018. | Efeitos de probióticos em marcadores inflamatórios, índices antropométricos e níveis séricos de vitamina B12, vitamina D, folato e homocisteína. | Duplo-cego, randomizado, controlado por placebo 46 indivíduos submetidos à OAGB-MGB. Grupo probiótico: a (<i>Lactobacillus casei</i> (3.5×10^9 UFC/g), <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (7.5×10^8 UFC/g), <i>Streptococcus thermophiles</i> (1×10^8 UFC/g), <i>Bifidobacterium breve</i> (1×10^{10} UFC/g), <i>Lactobacillus acidophilus</i> (1×10^9 UFC/g), <i>Bifidobacterium longum</i> (3.5×10^9 UFC/g), and <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (1×10^8 UFC/g) e 38.5mg de FOS Grupo placebo: maltodextrina Intervenção: 4 semanas anteriores à cirurgia e 12 semanas após a cirurgia | O grupo probiótico apresentou melhora significativa em parâmetros inflamatórios, assim como maior perda de peso e níveis mais elevados de vitamina D, quando comparado ao grupo placebo. |
| MOKHTARI, Z. et al. The effects of probiotic supplements on blood markers of endotoxin and lipid peroxidation in patients undergoing gastric bypass surgery; a randomized, double-blind, placebo- | Efeitos dos probióticos nos marcadores séricos de endotoxina, inflamação e peroxidação lipídica. | Duplo-cego, randomizado, controlado por placebo 46 pacientes submetidos à OAGB-MGB. Grupo probiótico: a (<i>Lactobacillus casei</i> (3.5×10^9 UFC/g), | A suplementação com probióticos melhorou os níveis de vitamina D, vitamina B12 e perda de peso, assim como LBP e TNF-alfa. |

| Autoria/Referência | Objetivo | Metodologia | Achados principais |
|---|---|---|--|
| controlled, clinical trial with 13 months follow-Up. Obesity Surgery , v. 29, p. 1248–1258, 2019. | | Lactobacillus rhamnosus (7.5×10^8 UFC/g), Streptococcus thermophiles (1×10^8 UFC/g), Bifidobacterium breve (1×10^{10} UFC/g), Lactobacillus acidophilus (1×10^9 UFC/g), Bifidobacterium longum (3.5×10^9 UFC/g) Lactobacillus bulgaricus (1×10^8 UFC/g) e 38.5mg de FOS Grupo placebo: maltodextrina Intervenção: 4 meses | |
| CALIKOGLU, F. et al. The Metabolic Effects of Pre-probiotic Supplementation After Roux-en-Y Gastric Bypass (RYGB) Surgery: a Prospective, Randomized Controlled Study. Obesity Surgery , v. 1, p. 1- 12, 2021. | Eficácia do uso de pre-probióticos nos níveis de insulina, incretinas e parâmetros antropométricos. | Prospectivo, randomizado, controlado 32 indivíduos submetidos ao BGYR Grupo pré-probiótico (200 g / dia de iogurte mais 10 g / dia de inulina + oligofrutose) e grupo probiótico (200 g / dia iogurte) Intervenção: 6 meses | O aumento da secreção de insulina, GLP-1 e PYY foi intensificado pelo uso de pré-probióticos no pós-operatório imediato. |

LEGENDA: Sintomas Gastrointestinais SGI; Bypass Gástrico em Y de Roux BGYR; Small intestine bacterial overgrowth SIBO; Unidade formadora de colônia UFC; One Anastomosis Gastric Bypass-Mini Gastric Bypass OAGB-MGB; Proteína de Ligação a lipopolissacarídeo LBP; Fator de Necrose Tumoral Alfa TNF-alfa, Glucagon-Like Peptide 1 GLP-1, Peptide YY PYY.

FONTE: A AUTORA (2021)

4.4 APLICAÇÃO DA METABONÔMICA EM CIRURGIA BARIÁTRICA E INTERVENÇÕES COM PROBIÓTICOS

Atualmente, observa-se um aumento na prevalência de doenças crônicas cuja desregulação metabólica é uma característica marcante que influencia a patogênese e progressão dessas doenças (NEWGARD, 2017). Portanto, analisar o perfil de metabólitos produzidos pelos indivíduos é uma estratégia eficaz na identificação e compreensão de diferentes fenótipos, contribuindo para o diagnóstico dessas doenças, assim como avaliação da evolução, gravidade e resposta às diferentes estratégias de prevenção e tratamento (NEWGARD, 2017; NICHOLSON et al., 1999).

É importante destacar que metabólitos são definidos como moléculas, (na sua maioria, com massa molar menor que 1 kDa) presentes em diversos fluidos do

organismo (urina, fezes, plasma), resultantes do processo de interação, metabolização ou catabolização, sendo classificados em endógenos, ou seja, produzidos pelo próprio organismo ou exógenos (aditivos alimentares, drogas, poluentes, entre outros produtos químicos que os humanos entram em contato). Os principais exemplos reportados na literatura incluem: peptídeos, lipídios, ácidos graxos, aminoácidos, ácidos nucleicos, carboidratos, ácidos orgânicos (LINDON; NICHOLSON, 2008; WISHART et al., 2018).

Os metabólitos são considerados moduladores ativos da atividade gênica e proteica. Atuam como cofatores e co-substratos enzimáticos em diversas reações bioquímicas e como moléculas de sinalização exercendo regulação dos fatores de transcrição e consequentemente a expressão gênica (RINSCHEN et al., 2019).

A ciência conhecida como metabonômica refere-se à compreensão do perfil de metabólitos produzidos pelo organismo, em resposta à uma modificação fisiológica, patológica ou intervenção experimental. É realizada a partir de análises como espectrometria via Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e modelos quimiométricos (NICHOLSON et al., 1999).

Na literatura, frequentemente é usado um termo semelhante denominado metabolômica, o qual é considerado, muitas vezes, sinônimo de metabonômica, entretanto possui uma abordagem diferenciada, pois a metabolômica engloba a análise quantitativa e qualitativa de todos os metabólitos de um sistema e a metabonômica identifica as modificações em um conjunto menor de metabólitos, em relação ao tempo, associadas a uma intervenção (NICHOLSON et al., 1999; ROBERTSON et al., 2005).

A aplicação da metabonômica e ou metabolômica para verificar as modificações metabólicas após cirurgia bariátrica tem sido reportada recentemente na literatura científica (WIJAYATUNGA et al., 2018; SAMCZUK et al., 2018; ILHAN et al., 2017). Uma revisão conduzida por Samczuk et al. (2018) selecionou 30 estudos que avaliaram o perfil de metabólitos após cirurgia bariátrica, sendo 53,7% dos estudos realizados em pacientes submetidos ao BGYR, e concluíram que a cirurgia influencia fortemente o metabolismo, alterando principalmente a produção de aminoácidos, carboidratos, lipídios e também as suas respectivas vias metabólicas, bem como metabólitos provenientes das alterações na microbiota intestinal.

Considerando que a suplementação de probióticos altera a composição da microbiota intestinal e consequentemente a produção de metabólitos, além do fato de

que perfis metabólicos possam ser biomarcadores úteis no diagnóstico de doenças ou garantia de saúde, a metabonômica/metabolômica, assim como transcriptômica, proteômica e lipidômica, têm sido utilizadas para compreender as rotas metabólicas de ação dos probióticos (CHUNG et al., 2018).

Diversos estudos com abordagem da metabonômica/metabolômica, conduzidos em humanos e animais, para avaliar o efeito de diferentes cepas e concentrações bacterianas, observaram alterações nos metabólitos produzidos, especialmente ácidos graxos de cadeia curta, aminoácidos e ácidos orgânicos em biofluidos, em tecidos e órgãos, principalmente em condições patológicas como doença inflamatória intestinal, doença hepática, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), cirrose e obesidade (HONG et al., 2011; PEDERSEN et al., 2011; SHI et al., 2015; MICCHELI et al., 2015; BAJAJ et al., 2014; KIM et al., 2017)

Apesar de já estabelecido na literatura que procedimentos cirúrgicos como BGYR induzem a alterações na composição da microbiota intestinal e que o uso de probióticos pode ser benéfico nessa população, até o momento, não foi identificado nenhum estudo que tenha avaliado os efeitos do uso de probióticos no perfil metabólico plasmático de pacientes submetidos ao BGYR.

5 MATERIAL E MÉTODO

5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um ensaio clínico randomizado controlado por placebo e duplo cego realizado com pacientes submetidos à cirurgia bariátrica pela técnica de BGYR no Hospital Santa Casa de Misericórdia de Curitiba, localizado no Município de Curitiba-PR.

5.2 ASPECTOS ÉTICOS

Este ensaio clínico foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) sob número do registro CAEE 79894217.9.0000.0020 e parecer 4.252.808 (ANEXO 1), e registrado na plataforma de Registros Brasileiros de Ensaio Clínicos (ReBEC) (nºRBR-4x3gqp). As etapas da pesquisa foram conduzidas de acordo com a Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), sendo seus preceitos éticos respeitados no que se refere a zelar pela legitimidade das informações, privacidade e sigilo do paciente.

Todos os pacientes incluídos no ensaio clínico foram informados quanto ao objetivo do estudo, confidencialidade e sigilo de dados, possíveis riscos e benefícios e assinaram ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1).

5.3 AUTORIZAÇÃO

Foi solicitada autorização para realização da pesquisa aos responsáveis pelo Serviço Ambulatorial de Cirurgia Bariátrica do referido hospital (APÊNDICE 2).

6 AMOSTRA E COLETA DE DADOS

6.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram estabelecidos, como critérios de inclusão: pacientes com idade entre 18 – 59 anos, ambos os sexos, com IMC $\geq 35 \text{ kg/m}^2$, em atendimento pré-operatório para realização de BGYR, que negavam o uso de antibióticos nas quatro semanas anteriores à cirurgia e assinaram ao TCLE.

Pacientes submetidos à reoperação, ou que apresentaram complicações cirúrgicas imediatas, além daqueles que utilizaram antibióticos no período do estudo ou tiveram adesão inferior a 90% em relação ao uso de probióticos (uso inadequado de probióticos por mais de nove dias consecutivos) foram excluídos do estudo.

6.2 CAPTAÇÃO DA AMOSTRA

No período entre abril de 2018 e maio de 2019, foi realizado o recrutamento dos pacientes por amostragem de conveniência de acordo com o fluxo de cirurgias realizadas nesse período, totalizando 110 pacientes elegíveis. Desses, 9 foram excluídos por não apresentarem os critérios de inclusão necessários ou não concordarem em participar da pesquisa. Portanto, 101 pacientes foram randomizados em grupo placebo e probiótico.

6.3 RANDOMIZAÇÃO E TRATAMENTO

A randomização dos pacientes foi realizada por um processo sistemático de alocação 1:1, sendo os pacientes divididos em grupo probiótico ou placebo. Os suplementos foram envasados e codificados (A ou B) em embalagens semelhantes por um farmacêutico que não participou do estudo. Além disso, cada embalagem possuía uma etiqueta para controle da ingestão diária da suplementação, a qual deveria ser preenchida pelo paciente (FIGURA 3). Os participantes e investigadores só tiveram conhecimento se o código de identificação do produto referia-se ao placebo ou ao probiótico após realização da estatística final.

FIGURA 3 - EMBALAGENS COM CÓDIGO DE IDENTIFICAÇÃO E ETIQUETA DE CONTROLE DE INGESTÃO DIÁRIA



FONTE: A AUTORA (2021)

O probiótico utilizado foi FloraVantage® (5 bilhões de *Lactobacillus acidophilus* NCFM®, 5 bilhões de *Bifidobacterium lactis* Bi-07®) da Bariatric Advantage (Aliso Viejo, CA, EUA) e o placebo foi um comprimido manipulado inerte consistindo de amido e 190 mg de lactose. Ambos eram comprimidos mastigáveis, semelhantes em aparência física, sabor e cor. Os pacientes foram orientados a manter os produtos em locais sem umidade ou exposição ao sol e deveriam ingerir dois comprimidos mastigáveis por dia, por 90 dias, no período noturno, a partir do sétimo dia de pós-operatório.

Durante o período de intervenção, os pesquisadores realizaram contato telefônico semanal com os pacientes com o intuito de garantir o uso correto da suplementação, assim como identificar possíveis efeitos adversos.

6.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Todos os pacientes foram operados por uma única equipe de cirurgiões, com padronização do procedimento cirúrgico, que consistiu em: laparotomia mediana, 100 cm de alça alimentar (alça de Roux), anastomose jejunojejunal 200 cm distal do ligamento de Treitz, criação de bolsa gástrica com capacidade de aproximadamente 30 mL, anastomose gastrojejunal antecólica e teste de vazamento intra-operatório negativo com azul de metileno. Todas as cirurgias foram feitas por via laparotômica.

6.5 ORIENTAÇÃO DIETÉTICA

No período da intervenção, todos os pacientes receberam a mesma orientação de evolução de dieta pós-operatória e ingestão de suplementação polivitamínica e proteica, de acordo com o protocolo padrão do hospital.

Foram orientados a realizarem 2 dias de dieta líquida restrita, 10 dias de dieta líquida completa, 10 dias de dieta pastosa, 10 dias de dieta semi-sólida e posteriormente dieta branda e dieta padrão, assim como utilizar a suplementação diária de módulo proteico e polivitamínico prescritos pela Nutricionista do Ambulatório de Cirurgia Bariátrica (ANEXO 2).

6.6 COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi realizada em três momentos distintos:

Consulta pré-operatória (T0 - aproximadamente 10 dias antes da cirurgia): Foi realizada coleta de dados clínicos e sociodemográficos, dados antropométricos e bioquímicos.

Consultas pós-operatória intermediária e final (T1 e T2 - Aproximadamente 45-50 dias e 90-95 dias de pós-operatório, respectivamente) - Foi realizada coleta de dados antropométricos e bioquímicos.

6.7 DADOS CLÍNICOS E SOCIODEMOGRÁFICOS

Dados clínicos e sociodemográficos, como informações de identificação pessoal, idade, sexo, tempo de diagnóstico de obesidade, presença de comorbidades, uso de medicamentos, prática de atividade física, tabagismo e ingestão de bebidas alcoólicas foram coletados a partir de ficha de anamnese nutricional e prontuário médico. Para coleta de informações referentes à prática de atividade física e consumo de álcool foram utilizados os critérios estabelecidos pela *World Health Organization* (WHO, 2004, 2018b).

6.8 DADOS ANTROPOMÉTRICOS

A avaliação antropométrica englobou a aferição de peso, estatura, circunferência abdominal, gordura corporal (% e em KG) e massa magra (Kg), além dos cálculos de IMC, excesso de peso (EP) e percentual de perda de excesso de peso (%PEP).

O peso foi aferido em balança mecânica com capacidade de 300Kg (Welmy®), instalada sobre superfície lisa, plana e afastada da parede. Para aferição da estatura foi utilizado estadiômetro acoplado à balança. A aferição do peso, assim como da estatura, seguiram o protocolo estabelecido pelo Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (BRASIL, 2011).

O IMC foi calculado a partir da fórmula: peso (Kg)/altura(m)². (WHO, 2000). Enquanto EP e %PEP foram calculados a partir das fórmulas abaixo:

$$EP = \text{Peso atual} - \text{Peso ideal.} \quad (1)$$

**Para o cálculo do peso ideal, foi utilizado como valor de referência IMC = 25 kg/m².

$$\%PEP = (\text{Peso pré-operatório} - \text{peso atual} / \text{Peso pré-operatório} - \text{peso ideal}) \times 100. \quad (2)$$

FONTE: DEITEL et al. (2007).

Para aferição da circunferência abdominal foi utilizada fita métrica inelástica, de material resistente e flexível. A aferição foi feita com o paciente em pé, ereto, com abdômen relaxado, braços estendidos ao longo do corpo e pés separados. A roupa foi afastada, de forma que a circunferência abdominal ficou exposta. Realizou-se a aferição no momento da expiração, no maior perímetro abdominal entre a última costela e a crista ilíaca (ABESO, 2016).

A avaliação da composição corporal foi realizada por meio de impedância bioelétrica tetrapolar, de acordo com as instruções do fabricante (BIA - 450 Bioimpedance Analyzer, Biodynamics, Seattle, EUA). Foi utilizada a técnica sugerida por Kyle et al. (2001), que consiste em manter o paciente deitado, em posição supina, com os membros superiores e inferiores estendidos e abduzidos, sem contato entre o corpo e metal externo, sem sapatos, meias, relógio e adornos de metal. Os eletrodos

foram colocados sempre nos membros direitos. Todos os pacientes seguiram o seguinte protocolo: jejum por no mínimo 4 horas, ausência de ingestão de álcool, refrigerantes, café ou demais bebidas ricas em cafeína, medicamentos diuréticos e realização de atividade física nas últimas 24 horas que antecederam o exame. Foram orientados ainda, sobre esvaziamento da bexiga e repouso físico nos minutos anteriores ao teste. Mulheres em período menstrual foram dispensadas da avaliação.

6.9 DADOS BIOQUÍMICOS

Foram coletados os seguintes exames bioquímicos: Glicose em jejum (mg/dL), insulina basal (mU/L), hemoglobina glicada (%), colesterol plasmático total (mg/dL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) (mg/dL), lipoproteína de alta densidade (HDL) (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), vitamina B12 (pmol/L), 25(OH) vitamina D (mg/mL) e ácido fólico (nmol/L). Além disso, foi coletado plasma para identificação de metabólitos, a qual foi realizada em um subgrupo da amostra final.

A coleta de sangue foi realizada por técnicos de enfermagem do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Curitiba. O local de punção foi a fossa antecubital, sendo utilizado sistema de coleta a vácuo. Todos os pacientes seguiram protocolo de jejum de 10 horas.

Após a coleta, as amostras passaram por fase de pré-centrifugação (homogeneização do material imediatamente após coleta) e centrifugação (separação de plasma e soro), conforme especificidade do exame. Para o procedimento de centrifugação foi utilizada a centrífuga Excelsa i2206® (Fanem, São Paulo, Brasil) programada com velocidade de rotação de 3600 rpm, por 10 minutos.

Exceto o plasma separado para análise de metabólitos, realizada no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (RNM) da Universidade Estadual de Londrina, os demais exames bioquímicos foram analisados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Curitiba, em concordância com os métodos e orientações dos fabricantes descritos abaixo:

Glicose em jejum, colesterol plasmático total, LDL, HDL e triglicerídeos foram obtidos por método enzimático colorimétrico (Vitros Fusion 5.1 *Chemistry System Analyzer*). A quantificação da hemoglobina glicada foi realizada de acordo com as recomendações de reagente específico (HbA1c Reagent Kit - *Vitros Chemistry Products*; Vitros 5.1, *Ortho Clinical Diagnostics*, England, UK), enquanto as

concentrações séricas de vitamina B12, folato, 25-hidroxivitamina D e insulina de jejum foram determinadas usando método de quimioluminescência amplificada (Vitros 3600).

Os índices de avaliação de sensibilidade à insulina – *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index* (QUICKI) e Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) foram obtidos a partir das equações propostas por Katz et al. (2000) e Matthews et al. (1985).

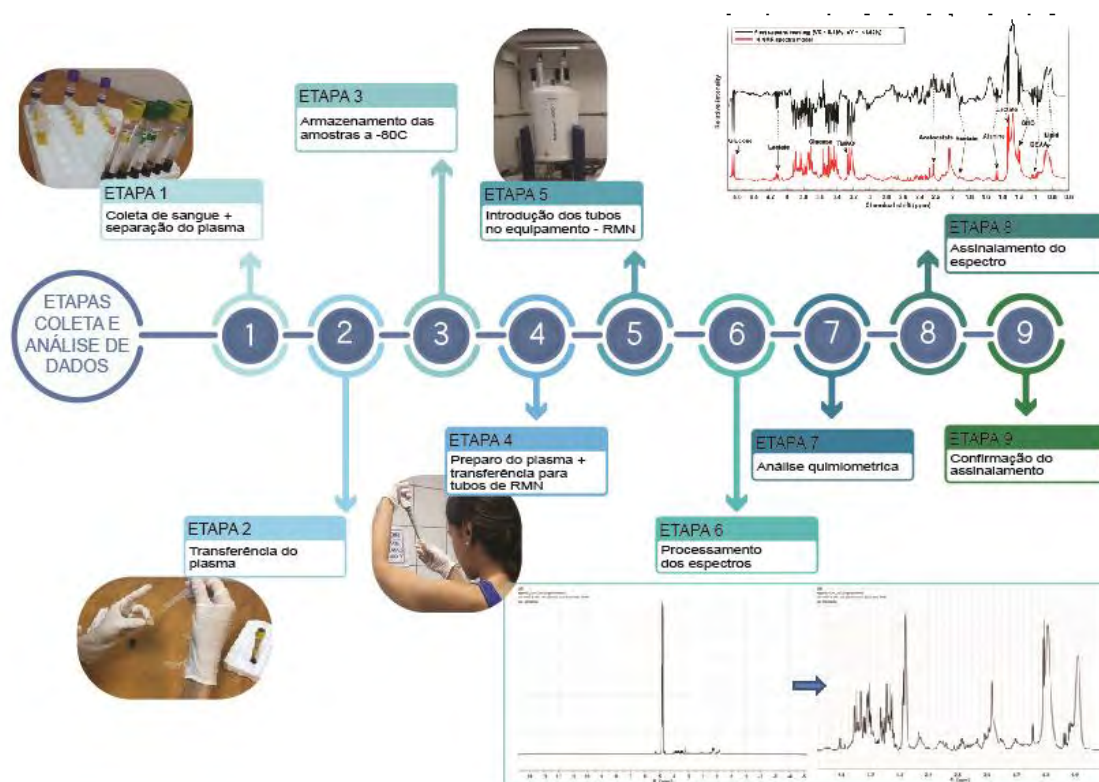
6.10 ANÁLISE DOS METABÓLITOS PLASMÁTICOS: METABONÔMICA

Para análise metabonômica, as amostras de sangue, após centrifugação, tiveram o plasma transferido para *ependorfs*, devidamente identificados e congelados sob temperatura de -80°C. Após descongelamento, o plasma foi homogeneizado e centrifugado com o intuito de remover partículas em suspensão. Posteriormente, 200 µL de plasma foram misturados com 400 µL de solução salina, NaCl 0,9% preparado em óxido de deutério, sendo parte do sobrenadante (500 µL) transferida para tubos de RMN.

Os espectros foram obtidos a partir de um espectrômetro 9,4 T Bruker Avance III (Bruker, Coventry, UK) (400,13 MHz, frequência de ^1H) equipado com uma sonda BBO (5 mm o.d.). Os espectros de RMN de ^1H foram adquiridos com a sequência de pulso Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), enquanto que PRESAT foram usados para suprimir o sinal de água. O processamento e análise dos espectros foi realizado usando o software TopSpin (v4.0.8, Bruker Biospin), incluindo construção do modelo quimiométrico e dados da literatura (FOXALL et al., 1993; BELL et al., 1987; FAN, 1996).

Todas as etapas envolvidas na análise metabonômica estão representadas na FIGURA 4 a seguir:

FIGURA 4 - ETAPAS DA ANÁLISE METABONÔMICA



FONTE: A AUTORA (2021)

Análise Estatística

Os dados foram computados em planilha Excel® e analisados nos softwares IBM SPSS Statistics 22.0®, software R 3.6.1 e 4.0.3® e MATLAB (R2015a)®.

Além de estatística descritiva englobando média, mediana, desvio padrão, amplitude e frequência, foram realizados testes estatísticos para verificar diferenças entre os grupos (Teste T independente, Teste qui-quadrado, Teste exato de Fisher para dados de contagem e Mann Whitney). Para avaliação do efeito da interação da suplementação foram utilizados modelos de regressão marginal ajustados. Valores de $p < 0.05$ representaram significância estatística.

7 ARTIGOS CIENTÍFICOS

Os resultados dessa tese foram organizados em dois artigos.

7.1 ARTIGO 1

Publicado na Revista Obesity Surgery em 14/01/2021.

DOI: 10.1007/s11695-021-05222-2

O artigo está apresentado de acordo com as normas da Revista.

Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 supplementation on nutritional and metabolic parameters in the early postoperative period after Roux-en-Y Gastric bypass: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial

Marília Rizzon Zaparolli Ramos¹, Lígia de Oliveira Carlos², Nathalia Ramori Farinha Wagner³, Ingrid Felicidade⁴, Magda Ramos da Cruz⁵, Cesar Augusto Taconeli⁶, Ricardo Fernandes⁷, Alcides José Branco Filho⁸, Antônio Carlos Ligocki Campos⁹.

¹ Registered Dietitian. PhD student in Clinical Surgery – UFPR. Master in Food and Nutrition - UFPR, Brazil. Email: mariliazaparolli@gmail.com

² Registered Dietitian. PhD student in Clinical Surgery – UFPR. Master in Food and Nutrition - UFPR, Brazil. E-mail: ligia.oc@hotmail.com

³ Registered Dietitian. PhD student in Clinical Surgery – UFPR. Master in Food and Nutrition - UFPR, Brazil. E-mail: nathalia_farinha@yahoo.com.br

⁴ Biomedical Scientist. PhD. São Paulo State University (UNESP), School of Medicine, Department of Pathology, Brazil. E-mail: ingrid.felicidade@gmail.com

⁵ Registered Dietitian. PhD. Professor of the Nutrition Course of the Pontifical Catholic University of Paraná (PUCPR), Brazil. E-mail: magda.cruz@pucpr.br

⁶ Professor of the Department of Statistics, Federal University of Paraná. PhD in Statistics and Agricultural Experimentation at ESALQ-USP, Brazil. E-mail: cetaconeli@gmail.com

⁷ Registered Dietitian. PhD. Professor in Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Brazil. E-mail: ricardofernandes@ufgd.edu.br

⁸ Medical Doctor. Surgeon of Santa Casa de Misericórdia de Curitiba Hospital, official member of IFSO, titular member of Brazilian Society of Bariatric and Metabolic Surgery. E-mail: alcidesjbf@terra.com

⁹ Medical Doctor. PhD. Professor of Surgery and Coordinator of the Post-graduate Program in Clinical Surgery, Department of Surgery, Federal University of Parana, Curitiba, Brazil. E-mail: acldcampos@hotmail.com

Corresponding Author: Marília Rizzon Zaparolli Ramos – Post-graduate Program in Clinical Surgery, Surgery Department – Hospital of Clinics, Federal University of Paraná.

R. Gen. Carneiro, 49 - Alto da Glória, Curitiba - PR, 80060-150, Curitiba, Paraná, Brazil.

E-mail: mariliazaparolli@gmail.com

ABSTRACT

Studies have suggested that Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) causes changes in the intestinal microbiota composition and function due to anatomical and physiological modifications. The role of probiotic supplementation after bariatric procedures remains to be determined. **Purpose:** The aim of this study was to investigate the effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 supplementation on nutritional and metabolic parameters after RYGB. **Materials and Methods:** This is a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Patients were assigned to receive either a probiotic supplement (FloraVantage®) or placebo for three consecutive months, beginning 7 days after surgery. Anthropometric and

biochemical indexes were evaluated in the preoperative period and at the end of the study.

Results: Following RYGB, serum 25-OH vitamin D increased in both groups compared to baseline; however, this increase was significant only in the probiotic group ($p=0.004$). Vitamin B12 levels tended to be higher in the probiotic group compared to the placebo group ($p=0.063$), and triglyceride levels showed a significant reduction in the probiotic group only ($p<0.001$). In addition, a significant reduction was observed in the anthropometric parameters and glycemic profile ($p<0.05$) in both groups. **Conclusion:** Probiotic supplementation after RYGB improves the vitamin and lipid profile.

Keywords: Roux-en-Y Gastric Bypass; Probiotics; Bariatric Surgery

INTRODUCTION

The worldwide obesity prevalence has expanded to pandemic proportions and is associated with considerable increases in cardiometabolic risks, morbidity and mortality levels [1–3]. Obesity is the result of a complex interaction between genetic and environmental factors, but many factors and mechanisms associated with its development are still not fully understood [4]. During the last few years, researchers have demonstrated that the intestinal microbiota is a relevant factor, e.g., individuals with obesity have differences in the diversity and richness of their intestinal microflora compared to individuals without overweight. These differences have been shown to contribute to higher energy extraction from the diet and metabolic pathways dysregulation [5].

Bariatric surgery is the most effective and durable treatment for morbid obesity, and Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) is the most frequently performed procedure in Brazil [6–8]. The anatomical and physiological changes after RYGB induce a pH and oxygen increase in the intestinal lumen, which can dysregulate the microbiota by impairing the proliferation of microbial species important for maintaining the intestinal barrier and metabolic actions, such *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* [9,10].

Oral probiotics administration can be an effective strategy to achieve intestinal eubiosis and improve the surgical results. The literature shows different hypotheses about the mechanisms related to supplementation with probiotics and weight loss, the metabolic profile and vitamin levels improvements, such as increased expression of genes associated with fatty acid metabolism, insulin sensitivity, the expression of adiponectin and AMPK activation, improved micronutrient absorption and a strengthened gut barrier [11–15].

Even though the scientific evidence has shown that bariatric surgery causes intestinal microbiota changes and alters metabolic and nutritional parameters (16), few studies have evaluated the effects of probiotics supplementation after RYGB or similar surgical techniques, such as one anastomosis gastric bypass-mini gastric bypass (OAGB-MGB). In the few available studies, *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains supplementation has been associated with improvements of gastrointestinal symptoms, the inflammatory profile and vitamin levels. Although supplementation might have beneficial effects on metabolic parameters, increase weight loss and improve the body composition, the evidence is scarce and controversial [16–20].

This study was designed to identify the effects of the supplementation of *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 on nutritional and metabolic parameters in the early postoperative period after RYGB.

MATERIALS AND METHODS:

This is a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial conducted with patients undergoing RYGB in a public hospital in Curitiba, Brazil, from April 2018 to January 2019. This study was approved by the Research Ethics Committee of the Pontifical Catholic University of Paraná (PUCPR) (n° 4.252.808) and was registered in the Brazilian Clinical Trials Registry - REBEC (n°RBR-4x3gqp). The inclusion criteria were adult candidates for RYGB, with a body mass index (BMI) ≥ 35 kg/m², who signed the informed consent form and did not

use antibiotics 4 weeks prior to the beginning of the study. Patients who were submitted to other surgical techniques or reoperation, as well as those participants who had immediate postsurgical complications, ingested antibiotics during the study period or had an adherence below 90% in the use of the tablets (inadequate use of the probiotics for more than nine consecutive days) were excluded.

Surgical Methods

All surgical procedures were performed by a single team of surgeons based on the standardization of the surgical procedure, which involves: midline laparotomy, 100 cm of alimentary limb (Roux limb), jejunum-jejunal anastomosis 200 cm distal from the Treitz ligament, creation of a gastric pouch with a capacity of approximately 30 mL, antecolic gastrojejunal anastomosis and a negative intraoperative leak test using methylene blue.

Randomization and Treatment

The investigators were responsible for the recruitment and randomization. Patient randomization was performed by a systematic 1:1 allocation process, with randomization codes being drawn to distribute the individuals into the Placebo or Probiotic group. The supplements were provided in similar packaging by a pharmacist who did not otherwise participate in the study. The participants and investigators were blinded to the product identification code. The probiotic used was FloraVantage® (5 billion *Lactobacillus acidophilus* NCFM® Strain, 5 billion *Bifidobacterium lactis* Bi-07®) from Bariatric Advantage (Aliso Viejo, CA, USA) and the placebo was an inert manipulated tablet consisting of starch and 190 mg of lactose. Both were chewable tablets, similar in physical appearance, taste and color. Patients were instructed to keep the products in places without humidity or sun exposure and to take two of the chewable tablets per day, for 90 days, starting on the seventh postoperative day.

Follow-up Assessments

The first assessment was performed at the first visit, approximately 10 days before surgery. Follow-up assessments were conducted at approximately 12 weeks postoperatively. According to the hospital's standard protocol, both groups received the same diet orientation and the same multivitamin and protein supplementation prescription. During the intervention period, adherence to the protocol was monitored weekly by phone calls and those who did not follow the protocol or presented with immediate postsurgical complications were excluded. Clinical and anthropometric assessments were performed at both visit times.

Clinical and Anthropometric Assessment

Anthropometric measurements included body weight (kg), height (m), BMI (kg/m^2), waist circumference (cm), percentage of excess weight loss (% EWL), body fat (kg and %) and lean mass (kg). BMI was calculated as body weight (kg)/height squared in meter (m^2), %EWL was calculated using the method described by Deitel et al. [21], and waist circumference was measured around the largest abdominal perimeter between the last rib and the iliac crest [22]. In addition, body composition assessment was performed using tetrapolar impedance analysis, according to the manufacturer's instructions (BIA - 450 Bioimpedance Analyzer, Biodynamics, Seattle, EUA).

Fasting glucose, total plasma cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and triglyceride levels were measured by a colorimetric enzymatic method (Vitros Fusion 5.1 Chemistry System Analyzer, Ortho Clinical Diagnostics, England, UK). The quantification of glycated hemoglobin (HbA1c) was performed according to the specifications of the HbA1c Reagent Kit (Vitros Chemistry Products; Vitros 5.1, Ortho Clinical Diagnostics, England, UK). The serum concentration of vitamin B₁₂, folate, 25-hydroxy vitamin D and fasting insulin were determined using an amplified chemiluminescence method (Vitros 3600, Ortho Clinical Diagnostics, England, UK).

Insulin sensitivity (QUICKI) and insulin resistance (HOMA-IR) were estimated using the equations proposed by Katz et al. and Matthews et al., respectively [23,24].

Clinical and sociodemographic data were collected from a nutritional anamnesis form and medical records. Physical activity practice and alcoholic consumption data were collected according to the World Health Organization's (WHO) criteria [25,26].

Primary and Secondary Outcomes

The primary outcomes were nutritional status changes, including both the anthropometric data and the serum vitamin levels. Secondary outcomes were metabolic parameters improvements, such as glycemic and lipid markers.

Statistical Analysis

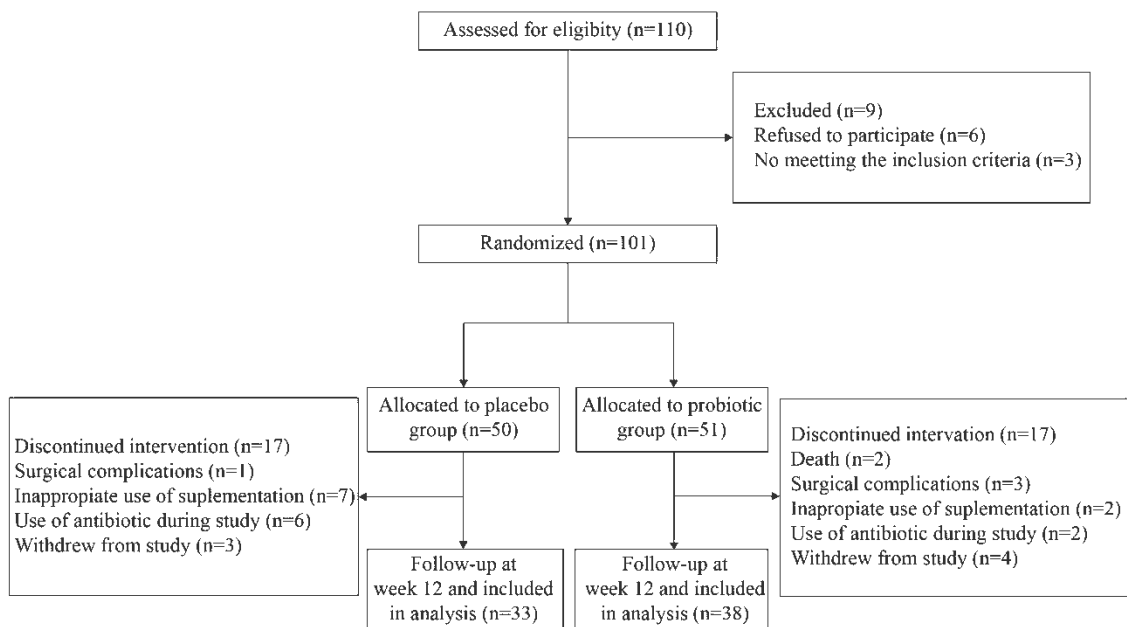
Independent t-test and chi-square tests of homogeneity were used to verify differences between groups, considering the numerical and categorical variables, respectively. The probiotic effect on each response variable was analyzed and adjusted by age, sex, body mass index, time since diagnosis and physical activity. Marginal regression models were fitted, and the interaction effect between the group and patient condition (pre or postoperative) was evaluated. A quasi-likelihood approach was used for fitting the regression models, aiming to lead with non-constant variance, non-normality and correlated (paired) measures taken from each patient. Robust (sandwich) standard errors were calculated to prevent possible model misspecifications. The link function was chosen among two options: identity or logarithmic. In the first case, the effects are additive, whereas under the logarithmic link function, the effects are multiplicative. The best option for each response variable, among these two link functions, was selected based on the Quasi AIC [27–30]. The results are presented as differences or the ratio of means. All analyses were performed using IBM SPSS Statistics version 22.0 software (SPSS, Chicago, IL) and R software version 3.6.1 (GLP, Auckland, New Zealand), considering $P < 0.05$ for statistical significance.

RESULTS

Characteristics of the Participants

From 110 patients initially selected, 9 were not eligible according to the inclusion criteria or refused to participate. Thus, 101 individuals were randomized into the placebo (n=50) or probiotic (n=51) group, and 71 (70.3%) completed the protocol (Figure 1).

Figure 1 – The study consort flowchart



Participants in the placebo and probiotic groups had $99\% \pm 2.3$ and $99\% \pm 2.4$ of adherence to supplementation, respectively ($p=0.652$). None of the participants reported adverse effects during the intervention.

The baseline demographic, clinical, and anthropometric variables analyzed were similar in both groups, except for age and hypertension, which were significantly higher in the placebo group, and total cholesterol levels, which were higher in the probiotic group (Tables 1-2; Figures 2-4).

Table 1 – Clinical and Demographic Baseline Characteristic

| | Placebo Group | Probiotic Group | <i>p</i> value ^a |
|---|---------------|-----------------|-----------------------------|
| Age (years)* | 43.80 ± 10.40 | 37.10 ± 11.10 | 0.010 |
| Sex | | | |
| Male [#] | 5 (15.20) | 4 (10.50) | 0.740 |
| Female [#] | 28 (84.80) | 34 (89.50) | |
| Obesity diagnosis time (years) | | | |
| < 5 years [#] | 2 (6.10) | 5 (13.20) | 0.510 |
| 5 – 9 years [#] | 9 (27.30) | 6 (15.8) | |
| 10 – 19 years [#] | 12 (36.40) | 17 (44.70) | |
| ≥ 20 years [#] | 10 (30.30) | 10 (26.30) | |
| Physical activity [#] | 16 (48.50) | 20 (52.70) | 0.670 |
| Current smokers [#] | 1 (3.00) | 0 (0.00) | 0.460 |
| Drinking alcohol [#] | 4 (12.10) | 8 (21.10) | 0.370 |
| Previous Comorbidities | | | |
| Arterial Hypertension [#] | 21 (63.60) | 11 (28.90) | 0.010 |
| Diabetes type 2 [#] | 7 (21.20) | 6 (15.80) | 0.760 |
| Dyslipidemia [#] | 18 (54.40) | 27 (71.10) | 0.210 |
| Hepatic steatosis [#] | 25 (75.80) | 26 (68.40) | 0.600 |
| Medications used | | | |
| Metformin [#] | 6 (18.20) | 6 (15.80) | 1.000 |
| Other oral hypoglycemic agents [#] | 8 (24.20) | 7 (18.40) | 0.580 |
| Proton pump inhibitors [#] | 4 (12.10) | 1 (2.60) | 0.160 |
| Dyslipidemia drugs [#] | 3 (9.10) | 3 (7.90) | 1.000 |

*Values are represented by mean ± SD

[#]Values are represented by *n* (%)^a Between-group at the baseline, based on independent t-test

Table 2 – Anthropometric measurements at the baseline and after 12 weeks of supplementation

| | Placebo Group | Probiotic Group | <i>p</i> _a | <i>p</i> _c |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|
| Weight (kg) | | | | |
| Baseline* | 120.36 (2.93) | 122.24 (3.318) | | 0.550 |
| 12 weeks* | 96.22 (2.68) | 99.626 (2.76) | | |
| <i>p</i> _b | <0.001 | <0.001 | | |
| Change (95% CI) | 0.79 (0.75; 0.84) | 0.81 (0.76; 0.86) | 0.647 | |
| BMI (kg/m ²) | | | | |
| Baseline* | 44.31 (0.75) | 43.95 (0.76) | | 0.630 |
| 12 weeks* | 35.94 (0.73) | 36.06 (0.66) | | |
| <i>p</i> _a | <0.001 | <0.001 | | |
| Change (95% CI) | 0.80 (0.77; 0.83) | 0.82 (0.78; 0.85) | 0.461 | |
| EWL (%) | | | | |
| Baseline* | NA | NA | | NA |
| 12 weeks* | 50.87 (12.73) | 47.94 (9.96) | 0.290 | |
| <i>p</i> _a | NA | NA | | |
| WC (cm) | | | | |
| Baseline* | 134.13 (2.55) | 130.85 (2.47) | | 0.240 |
| 12 weeks* | 114.99 (2.28) | 115.93 (1.96) | | |
| <i>p</i> _a | <0.001 | <0.001 | | |
| Change (95% CI) | 0.85 (0.82; 0.89) | 0.88 (0.84; 0.92) | 0.290 | |
| Body Fat (kg) | | | | |
| Baseline* | 55.42 (2.73) | 55.95 (2.75) | | 0.820 |
| 12 weeks* | 35.81 (2.22) | 37.14 (1.84) | | |
| <i>p</i> _a | <0.001 | <0.001 | | |
| Change (95% CI) | 0.64 (0.58; 0.71) | 0.66 (0.59; 0.74) | 0.726 | |

| | | | |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| Body Fat (%) | | | |
| Baseline ^a | 46.71 (1.33) | 46.18 (1.22) | 0.720 |
| 12 weeks ^a | 37.02 (1.65) | 36.95 (1.24) | |
| <i>p_a</i> | <0.001 | <0.001 | |
| Change (95% CI) | -9.65 (-12.56; -6.73) | -9.22 (-11.90; -6.54) | 0.836 |
| Lean body Mass (kg) | | | |
| Baseline ^a | 63.22 (1.87) | 65.23 (1.81) | 0.350 |
| 12 weeks ^a | 59.60 (1.71) | 62.52 (1.81) | |
| <i>p_a</i> | 0.090 | 0.166 | |
| Change (95% CI) | 0.94 (0.88; 1.00) | 0.95 (0.90; 1.01) | 0.719 |

BMI body mass index, *EWL (%)* percentage excess weight loss, *WC* waist circumference

^aValues are represented by mean (SE)

^aBetween-group at the baseline, based on independent t-test

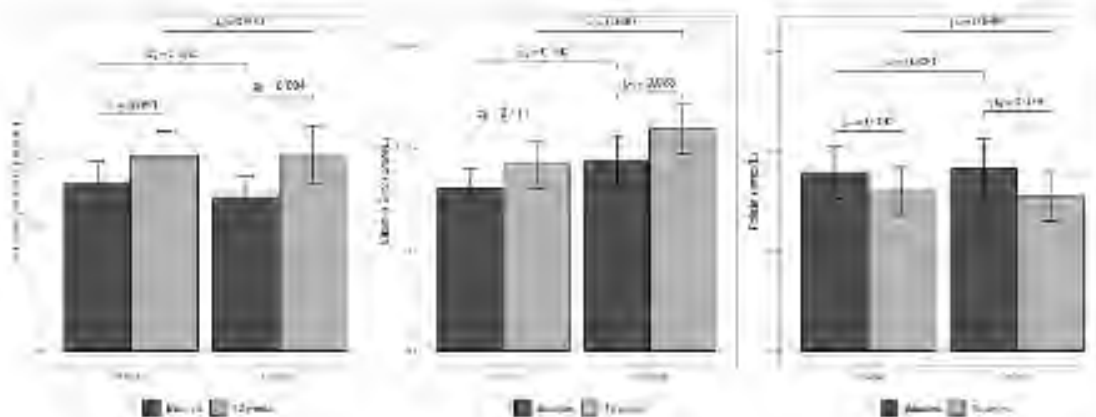
^bTime effect for each group based on the fitted regression model

^cInteraction effect based on the fitted regression model

Primary Outcomes

After 90 days of intervention, significant reductions were observed in the anthropometric parameters (weight, BMI, WC, body fat) in comparison to the baseline values ($p < 0.05$) in both groups (Table 2). Serum 25-OH-vitamin D increased in both groups compared to baseline; however, this increase was significant only in the probiotic group ($p = 0.004$). Vitamin B₁₂ levels tended to be significantly higher in the probiotic group than the placebo group ($p=0.063$) (Figure 2). The remaining anthropometric and nutritional variables were similar in both groups.

Figure 2 – Vitamin levels of patients in the probiotic and placebo group over supplementation period. Values are represented by mean (SE)



^aBetween-group at the baseline, based on independent t-test

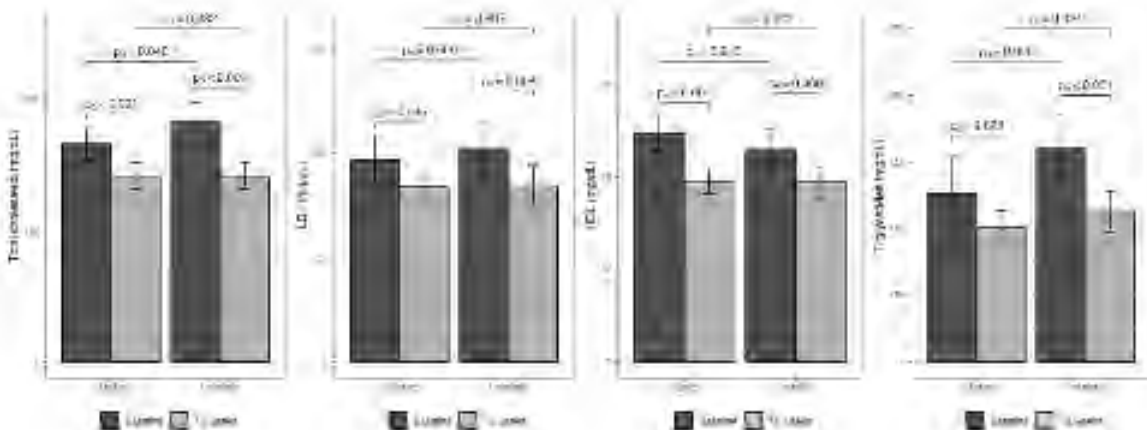
^bTime effect for each group based on the fitted regression model

^c Interaction effect based on the fitted regression model

Secondary Outcomes

As shown in Figures 3–4, statistically significant improvements in FBS, HbA1c, insulin, HOMA-IR, QUICKI, total cholesterol, HDL and LDL were observed in both groups regardless of the use of probiotics. However, triglyceride levels showed a significant reduction in the probiotic group only ($p < 0.001$).

Figure 3 – Lipid profile of patients in the probiotic and placebo group over supplementation period. *LDL* low-density lipoprotein cholesterol, *HDL* high-density lipoprotein cholesterol. Values are represented by mean (SE)

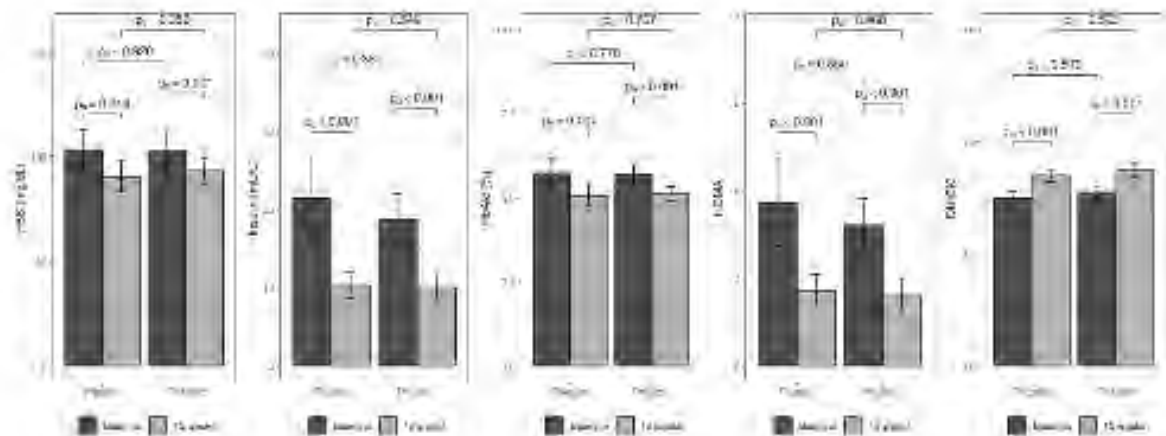


^aBetween-group at the baseline, based on independent t-test

^bTime effect for each group based on the fitted regression model

^c Interaction effect based on the fitted regression model

Figure 4 – Glycemic profile of patients in the probiotic and placebo group over supplementation period. *FBS* fasting blood sugar, *HbA1c* glycated hemoglobin, *HOMA-IR* homeostasis model assessment of insulin resistance, *QUICKI* quantitative insulin check index. Values are represented by mean (SE)



^aBetween-group at the baseline, based on independent t-test

^bTime effect for each group based on the fitted regression model

^cInteraction effect based on the fitted regression model

DISCUSSION

This is the first randomized, double-blind and placebo-controlled study to test the effect of supplementation with *Lactobacillus acidophilus* NCFM combined with *Bifidobacterium lactis* Bi-07 on nutritional and metabolic parameters three months after RYGB.

The results of the present study showed significant improvements of anthropometric and metabolic parameters in both groups after RYGB, consistent with other clinical trials, confirming that bariatric surgery is a very effective therapy for weight loss management and metabolic improvement in morbidly obese individuals [31–34]. However, there was a significant improvement in the serum concentrations of 25-OH vitamin D and triglycerides and a trend for increased serum vitamin B₁₂ levels in the probiotic group only.

After RYGB, patients lose an average of 50–80% of their excess body weight, and they generally experience long-term comorbidities remission [35]. Dietary restriction, poor nutrient

absorption, reduced ghrelin levels and microbiota modifications all play important roles in the significant weight loss after surgery [36,37]. In addition, the literature shows different mechanistic hypotheses related to probiotics supplementation and weight loss, such as increased expression of genes associated with fatty acid metabolism, resensitization to insulin, increased production of adiponectin and AMPK activation [38,39]. Karbashian et al. [19] showed a significant reduction in postoperative body weight and %EWL in patients who received *Lactobacillus* and *Bifidobacteria* supplementation. However, it is important to emphasize that in that study, probiotic supplementation began 4 weeks before OAGB-MGB and was continued for 12 weeks after the surgery. However, in agreement with our study, Woodard et al. [17] showed no statistically significant difference in %EWL after daily *Lactobacillus* species supplementation for six months after RYGB.

Microbiota-produced vitamins can contribute to serum vitamin levels, particularly vitamin B₁₂. However, after bariatric surgery, changes in the intestinal microbiota can modify the microbial functional capacity, especially during the first three months after surgery [40]. Intestinal bacterial overgrowth, preoperative vitamin deficiency and nonadherence to the use of multivitamin supplements may contribute to worsening serum vitamin B concentrations in the postoperative period [41].

Lactobacillus and *Bifidobacteria* supplementation may be an appropriate strategy to improve the status of vitamin B₁₂ through intestinal microbiota modulation [14,42]. Although supplementation did not present significant differences between the groups in this study, there was a tendency toward increased serum B₁₂ concentration in the group supplemented with probiotics. Another study conducted with patients after RYGB who were supplemented with *Lactobacillus* species for six months has reported significantly higher postoperative vitamin B₁₂ levels in the probiotic supplemented group [17].

In this study, the probiotic group showed a significant increase in vitamin D levels, corroborating the findings of Karbashian et al. [19]. This increase in vitamin D levels is expected after rapid weight loss due to the release of vitamin D from adipose tissue [43]. Also, recent studies have demonstrated that vitamin D status is associated with the intestinal microbiota composition and that probiotic treatment could increase 7-dehydrocholesterol synthesis and vitamin D receptor (VDR) expression and activity [44,45].

Our results showed that probiotic supplementation after RYGB is effective in reducing triglycerides levels. Additionally, in absolute numbers, the average reduction of total cholesterol was almost 18 mg/dl (8,3%) greater in the probiotic group than the placebo group. Several clinical trials have reported a total cholesterol level reduction without changes in the HDL and triglycerides levels in patients with hypercholesterolemia supplemented with probiotics [46–51]. Those studies included both lean and overweight patients, which may have contributed to the different findings with regard to the triglyceride levels. Although the mechanism of action is not well-known, it seems possible that the decrease in triglycerides levels may be due to the upregulation of apolipoprotein A-V (ApoA-V), bile acid receptor (FXR) and PPAR alpha expression in the plasma [46]. Some studies have suggested that probiotics supplementation produces a cholesterol-lowering effect through multiple mechanisms, including increased salt hydrolase expression by lactic acid bacteria, intracellular cholesterol transfer to the cellular surface, cholesterol precipitation by deconjugated bile salt hydrolysate, ferulic acid (FA) synthesis, which can inhibit enzymes involved in endogenous cholesterol production, and higher levels of production of short-chain fatty acids (SCFAs) that can block hepatic cholesterol synthesis [13,52–55].

Despite evidence that changes in the intestinal microbiota and the use of probiotics can improve glycemic parameters in animal models and in humans, especially those with type 2 diabetes (T2D) [56], in the present study the glucose profile and the insulin index did not show

any significant improvement after probiotics supplementation. Another study that investigated the effects of probiotics on the glycemic profile after OAGB-MGB also found no significant differences between the control and probiotic groups [19]. These controversial results can be explained by study heterogeneity and many confounding factors, such as the use of drugs, individuality of the intestinal microbiota, BMI, type of surgical procedure and specific strains effects.

The strengths of our study are the design (randomized, double-blind, placebo-controlled), the use of probiotics and placebo developed for this specific supplementation period (both being chewable and palatable), and the high adherence achieved with the use of probiotics or placebo (over 99% supplementation adherence).

The main limitation of this study is the lack of an intestinal microbiota composition analysis. Randomization, use of the same surgical technique, a standardized diet and multivitamin supplementation, and weekly contact between researchers and participants to monitor their adherence to the research protocol were strategies used to minimize interindividual variability.

In conclusion, anthropometric and metabolic improvements were observed in both groups after RYGB. However, only the probiotic group showed significant improvements in serum 25-OH vitamin D and triglycerides levels. Additional studies, including a longer probiotics supplementation time, are needed to confirm these positive results.

Funding information: This research received financial support from the CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel). CAPES had no influence on the writing, submission or any other part of research formulation.

Conflict of Interest Statement: The authors declare that they have no conflict of interest. The probiotics were donated by Bariatric Advantage and placebo and glucose by Dermatologica

Pharmacy. The authors report non-financial support from Bariatric Advantage or Dermatologica Pharmacy.

Marília Rizzon Zaparolli Ramos - no conflict of interest

Lígia de Oliveira Carlos - no conflict of interest

Nathalia Ramori Farinha Wagner - no conflict of interest

Ingrid Felicidade - no conflict of interest

Magda Ramos da Cruz - no conflict of interest

Cesar Augusto Taconeli - no conflict of interest

Ricardo Fernandes - no conflict of interest

Alcides José Branco Filho - no conflict of interest

Antônio Carlos Ligocki Campos - no conflict of interest

Ethical Approval Statement: This study was approved by the Research Ethics Committee of the Pontifical Catholic University of Paraná (PUCPR) (nº 4.252.808) and was registered in the Brazilian Clinical Trials Registry - REBEC (nºRBR-4x3gqp). All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

REFERENCES

1. Gonzalez AB De, Phil D, Hartge P, Sc D, Cerhan JR, Ph D, et al. NIH Public Access. 2011;363:2211–9.
2. Lee WJ, Almulaifi A. Recent advances in bariatric/metabolic surgery: Appraisal of clinical evidence. J Biomed Res. 2015;29:98–104.
3. Tsatsoulis A, Paschou SA. Metabolically Healthy Obesity: Criteria, Epidemiology, Controversies, and Consequences. Curr Obes Rep. Current Obesity Reports; 2020;9:109–20.

4. Adela Hruby, PhD M, Frank B. Hu, MD, PhD M. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics*. 2015;33:673–89.
5. Mazloom K, Siddiqi I, Covasa M. Probiotics: How effective are they in the fight against obesity? *Nutrients*. 2019;11:1–24.
6. English WJ, Williams DB. Metabolic and Bariatric Surgery: An Effective Treatment Option for Obesity and Cardiovascular Disease. *Prog Cardiovasc Dis* [Internet]. Elsevier Inc; 2018;61:253–69. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2018.06.003>
7. Himpens J, Ramos A, Welbourn R, Dixon J, Frøp F, Kinsman ER, et al. The IFSO global registry report 2018 [Internet]. 4th ed. Oxfordshire: Dendrite Clinical Systems Ltd.; 2018. Available from: <https://www.ifso.com/pdf/4th-ifso-global-registry-report-last-2018.pdf>
8. Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica (SBCBM). Cirurgia Bariátrica: Técnicas cirúrgicas [Internet]. 2017. Available from: <https://www.sbcm.org.br/tecnicas-cirurgicas-bariatrica/>
9. Bernardeau M, Vernoux JP, Henri-Dubernet S, Guéguen M. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. *Int J Food Microbiol*. 2008;126:278–85.
10. Russell DA, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *Int J Food Microbiol*. 2011;149:88–105.
11. Falcinelli S, Rodiles A, Hatef A, Picchietti S, Cossignani L, Merrifield DL, et al. Influence of Probiotics Administration on Gut Microbiota Core A Review on the Effects on Appetite Control, Glucose, and Lipid Metabolism. *J Clin Gastroenterol*. 2018;52:S50–6.
12. Kobyliak N, Conte C, Cammarota G, Haley AP, Styriak I, Gaspar L, et al. Probiotics in prevention and treatment of obesity: A critical view. *Nutr Metab* [Internet]. Nutrition & Metabolism; 2016;13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12986-016-0067-0>
13. Kumar M, Nagpal R, Kumar R, Hemalatha R, Verma V, Kumar A, et al. Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012.
14. Leblanc JG, Laiño JE, del Valle MJ, Vannini V, van Sinderen D, Taranto MP, et al. B-Group vitamin production by lactic acid bacteria - current knowledge and potential applications. *J Appl Microbiol*. 2011;111:1297–309.
15. Lee ES, Song EJ, Nam Y Do, Lee SY. Probiotics in human health and disease: from nutraceuticals to pharmabiotics. *J Microbiol*. 2018;56:773–82.
16. Fernandes R, Beserra BTS, Mocellin MC, Kuntz MGF, da Rosa JS, de Miranda RCD, et al. Effects of Prebiotic and Synbiotic Supplementation on Inflammatory Markers and Anthropometric Indices After Roux-en-Y Gastric Bypass. *J Clin Gastroenterol*. 2016;50:208–17.
17. Woodard GA, Encarnacion B, Downey JR, Peraza J, Chong K, Hernandez-Boussard T, et al. Probiotics improve outcomes after roux-en-Y gastric bypass surgery: A prospective randomized trial. *J Gastrointest Surg*. 2009;13:1198–204.

18. Wagner NRF, Ramos MRZ, de Oliveira Carlos L, da Cruz MRR, Taconeli CA, Filho AJB, et al. Effects of Probiotics Supplementation on Gastrointestinal Symptoms and SIBO after Roux-en-Y Gastric Bypass: a Prospective, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Obes Surg. Obesity Surgery*; 2020;
19. Karbaschian Z, Mokhtari Z, Pazouki A, Kabir A, Hedayati M, Moghadam SS, et al. Probiotic Supplementation in Morbid Obese Patients Undergoing One Anastomosis Gastric Bypass-Mini Gastric Bypass (OAGB-MGB) Surgery: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Clinical Trial. *Obes Surg. Obesity Surgery*; 2018;28:2874–85.
20. Mokhtari Z, Karbaschian Z, Pazouki A, Kabir A, Hedayati M, Mirmiran P, et al. The Effects of Probiotic Supplements on Blood Markers of Endotoxin and Lipid Peroxidation in Patients Undergoing Gastric Bypass Surgery; a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Clinical Trial with 13 Months Follow-Up. *Obes Surg. Obesity Surgery*; 2019;29:1248–58.
21. Deitel M; Gawdat K; Melissas J. Reporting weight loss. *Obes Surg.* 2007;17:1275.
22. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica (ABESO). Diretrizes Brasileiras de Obesidade [Internet]. São Paulo; 2016. Available from: <https://abeso.org.br/wp-content/uploads/2019/12/Diretrizes-Download-Diretrizes-Brasileiras-de-Obesidade-2016.pdf>
23. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: A simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2402–10.
24. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28:412–9.
25. World Health Organization. Physical Activity [Internet]. 2018. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity>
26. World Health Organization. Global Status Report on Alcohol 2004 [Internet]. 2004. Available from: https://www.who.int/substance_abuse/publications/globalstatusreportalcoholchapters/en/
27. Halekoh U, Højsgaard S, Yan J. The R package geepack for generalized estimating equations. *J Stat Softw.* 2006;15:1–11.
28. Yan J, Fine J. Estimating equations for association structures. *Stat Med.* 2004;23:859–74.
29. Russell Lenth. Emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. [Internet]. 2018. Available from: <https://cran.r-project.org/package=emmeans>
30. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing [Internet]. 2018. Available from: <https://www.r-project.org/>
31. Adams TD, Davidson LE, Litwin SE, Kim J, Kolotkin RL, Nanjee MN, et al. Weight and metabolic outcomes 12 years after gastric bypass. *N Engl J Med.* 2017;377:1143–55.
32. Halperin F, Ding SA, Simonson DC, Panosian J, Goebel-Fabbri A, Wewalka M, et al. Roux-

en-Y gastric bypass surgery or lifestyle with intensive medical management in patients with type 2 diabetes: Feasibility and 1-year results of a randomized clinical trial. *JAMA Surg.* 2014;149:716–26.

33. Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, Wolski K, Aminian A, Brethauer SA, et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes - 5-year outcomes. *N Engl J Med.* 2017;376:641–51.

34. Adams TD, Pendleton RC, Strong MB, Kolotkin RL, James M, Litwin SE, et al. Health Outcomes of Gastric Bypass Patients Compared to Nonsurgical, Nonintervened Severely Obese. *Obesity.* 2010;18:121–30.

35. Cummings DE, Overduin J, Foster-Schubert KE. Gastric bypass for obesity: Mechanisms of weight loss and diabetes resolution. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2608–15.

36. Ionut V, Bergman RN. Mechanisms responsible for excess weight loss after bariatric surgery. *J Diabetes Sci Technol.* 2011;5:1263–82.

37. Ulker I, Yildiran H. The effects of bariatric surgery on gut microbiota in patients with obesity: A review of the literature. *Biosci Microbiota, Food Heal.* 2019;38:3–9.

38. Kim SW, Park KY, Kim B, Kim E, Hyun CK. *Lactobacillus rhamnosus* GG improves insulin sensitivity and reduces adiposity in high-fat diet-fed mice through enhancement of adiponectin production. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2013;431:258–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.12.121>

39. Rouxinol-Dias AL, Pinto AR, Janeiro C, Rodrigues D, Moreira M, Dias J, et al. Probiotics for the control of obesity - Its effect on weight change. *Porto Biomed J* [Internet]. PBJ- Associação Porto Biomedical/Porto Biomedical Society; 2016;1:12–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbj.2016.03.005>

40. Ciobârca D CAF, Copăescu C, Miere D CG. Bariatric Surgery in Obesity : Effects on Gut Microbiota and Micronutrient Status. *Nutrients.* 2020;12:235.

41. Patel JJ, Mundi MS, Hurt RT, Wolfe B, Martindale RG. Micronutrient Deficiencies after Bariatric Surgery: An Emphasis on Vitamins and Trace Minerals. *Nutr Clin Pract.* 2017;32:471–80.

42. Castañeda Guillot C. Probiotics: An update. *Rev Cubana Pediatr* [Internet]. Sociedade Brasileira de Pediatria; 2018;90:286–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpdp.2014.08.006>

43. Mason C, Xiao L, Imayama I, Duggan CR, Bain C, Foster-Schubert KE, et al. Effects of weight loss on serum vitamin D in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2011;94:95–103.

44. Shang M, Sun J. Vitamin D/VDR, Probiotics, and Gastrointestinal Diseases. *Curr Med Chem.* 2016;24:876–87.

45. Jones ML, Martoni CJ, Prakash S. Oral supplementation with probiotic *L. reuteri* NCIMB 30242 increases mean circulating 25-hydroxyvitamin D: A post hoc analysis of a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:2944–51.

46. Mo R, Zhang X, Yang Y. Effect of probiotics on lipid profiles in hypercholesterolaemic adults: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Med Clin (Barc)* [Internet]. Elsevier España, S.L.U.; 2019;152:473–81. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.09.007>
47. Fuentes MC, Lajo T, Carrión JM, Cuñé J. Cholesterol-lowering efficacy of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529 in hypercholesterolaemic adults. *Br J Nutr.* 2013;109:1866–72.
48. Choi ID, Kim SH, Jeong JW, Lee DE, Huh CS, Hong SS, et al. Triglyceride-lowering effects of two probiotics, *Lactobacillus plantarum* KY1032 and *Lactobacillus curvatus* HY7601, in a rat model of high-fat diet-induced hypertriglyceridemia. *J Microbiol Biotechnol.* 2015;26:483–7.
49. Tonucci LB, Olbrich dos Santos KM, Licursi de Oliveira L, Rocha Ribeiro SM, Duarte Martino HS. Clinical application of probiotics in type 2 diabetes mellitus: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clin Nutr* [Internet]. Elsevier Ltd; 2017;36:85–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2015.11.011>
50. Pourrajab B, Fatahi S, Dehnad A, Kord Varkaneh H, Shidfar F. The impact of probiotic yogurt consumption on lipid profiles in subjects with mild to moderate hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [Internet]. The societies SID, SISA and SINU and the Department of Clinical Medicine and Surgery at Federico II University in Italy; 2020;30:11–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.10.001>
51. Jiang J, Wu C, Zhang C, Zhao J, Yu L, Zhang H, et al. Effects of probiotic supplementation on cardiovascular risk factors in hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trial. *J Funct Foods* [Internet]. Elsevier; 2020;74:104177. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104177>
52. Klaver FAM, Van der Meer R. The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity. *Appl Environ Microbiol.* 1993;59:1120–4.
53. Xie N, Cui Y, Yin YN, Zhao X, Yang JW, Wang ZG, et al. Effects of two *Lactobacillus* strains on lipid metabolism and intestinal microflora in rats fed a high-cholesterol diet. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. BioMed Central Ltd; 2011;11:53. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/11/53>
54. Kimoto H, Ohmomo S, Okamoto T. Cholesterol removal from media by lactococci. *J Dairy Sci.* Elsevier; 2002;85:3182–8.
55. Tomaro-Duchesneau C, Jones ML, Shah D, Jain P, Saha S, Prakash S. Cholesterol Assimilation by *Lactobacillus* Probiotic Bacteria: An in Vitro Investigation. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
56. Yao K, Zeng L, He Q, Wang W, Lei J, Zou X. Effect of probiotics on glucose and lipid metabolism in type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of 12 randomized controlled trials. *Med Sci Monit.* 2017;23:3044–30453.

7.2 ARTIGO 2

O artigo está apresentado de acordo com as normas da Revista Nutrients.

Article

Probiotic supplementation alters the plasma metabolite profile after RYGB: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial

Marília Rizzon Zaparolli Ramos ¹, Lígia de Oliveira Carlos ¹, Nathalia Ramori Farinha Wagner ¹, Ingrid Felicidade ^{2,*}, Mário Sérgio Mantovani ², Luan Vitor Alves de Lima ², Lúcia Regina Ribeiro ³, Thiago Inácio Barros Lopes ⁴, Fernanda Carla Henrique-Bana ⁵, João Vitor Zimmerman ⁶, Fernando Cesar Macedo Junior ⁶, Magda Rosa Ramos da Cruz ⁷ and Antônio Carlos Ligocki Campos ¹

¹ Post-graduate Program in Clinical Surgery, Department of Surgery, Federal University of Parana, Curitiba, Brazil; mariliazaparolli@gmail.com (M.R.Z.R); ligia.oc@hotmail.com (L.O.C); nathalia_farinha@yahoo.com.br (N.R.F.W); aelcampos@hotmail.com (A.C.L.C)

² Department of General Biology, Center of Biological Sciences, Londrina State University (UEL), Londrina, Brazil; ingrid.felicidade@gmail.com (I.F); biomsm@uel.br (M.S.M); luan.vitorlima@uel.br (L.V.A.L)

³ School of Medicine, Department of Pathology, São Paulo State University (UNESP), São Paulo, Brazil; luciareginaribeiro@uol.com.br (L.R.R)

⁴ Department of Chemistry, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazil; inacio_thiago@hotmail.com (T.I.B.L)

⁵ Department of Food Science and Technology, Center of Agrarian Sciences, State University of Londrina, Londrina, Brazil; ferhenriquebana@gmail.com (F.C.H.B)

⁶ Department of Chemistry, Center of Exact Sciences, State University of Londrina, Londrina, Brazil; macedofc@gmail.com (F.C.M.J), joaozimmer1@gmail.com (J.V.Z)

⁷ Department of Nutrition, Pontifical Catholic University of Paraná (PUCPR), Curitiba, Brazil; magda.cruz@pucpr.br (M.R.R.C)

Abstract: There is evidence that metabolic profile changes after Roux-Y gastric bypass (RYGB), especially due to modifications in the gastrointestinal tract. In addition, previous studies have suggested that probiotics can modify the microbiome and produce metabolites important for metabolic health maintenance. In this sense, the aim of this study was to verify the influence of probiotic supplementation on the plasma metabolite profile after RYGB. This was a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial conducted with thirty-one patients subjected to RYGB surgery, randomized in probiotic group that was supplemented with a probiotic supplement (FloraVantage®) for three months after surgery or a placebo group. Plasma metabonomics was performed using nuclear magnetic resonance (NMR) at the preoperative period (T0) and at 45-50 days (T1) and 90-95 days (T2) during the postoperative period/intervention. Reductions in trimethylamine-N-oxide (TMAO) and alanine were observed in both groups, however this reduction was greater in the probiotic group (TMAO 13.82%, $p=0.01$ and alanine 14.03%, $p=0.03$) at T2. Additionally, β -hydroxybutyrate (BHB) levels increased 10.77% in the probiotic group ($p=0.03$) compared to the placebo group at T2. Supplementation with *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 was able to associated with significant differences in relevant plasma metabolites associated with improved metabolic health.

Keywords: Roux-en-Y Gastric bypass; probiotics; nuclear magnetic resonance; metabonomics

1. Introduction

Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) is an effective and long-lasting way to provide sustainable weight loss and remission of obesity-related comorbidities [1–3]. The outcomes of a controlled prospective study showed that the average weight loss was stable between 6 and 12 years after surgery, and the remission rates for type 2 diabetes, hypertension and dyslipidemia were more favorable in the surgery patient group than in the nonsurgery individual group, indicating an improvement in metabolic health [4].

Anatomical and physiological modifications of the gastrointestinal tract after RYGB alter intestinal pH and oxygen and bile acid intestinal concentrations [5]. These modifications can change the composition, diversity and functions of the intestinal microbiota after surgery, modifying the metabolic profile [6–8]. Individuals undergoing RYGB present a differentiated metabolite profile when compared to nonsurgical individuals or those submitted to other surgical techniques, especially with respect to the products of fermentation of amino acids and carbohydrates such as butyrate, propionate and branched chain amino acids (BCAAs) [9].

Furthermore, previous studies have shown that probiotics have the potential to modify the microbiome and produce metabolites that are important for health maintenance or converting a precursor into a bioactive compound [10–12]. Changes in the levels of choline, glutamine, acetate, trimethylamine-N-oxide (TMAO), and other products of the metabolism of amino acids, carbohydrates and lipids have been reported in the literature after probiotic supplementation [13]. Despite their potential to induce improvements after surgery, there are no studies that have evaluated the influence of probiotic supplementation on plasma metabolites after RYGB.

In this context, the aim of this study was to analyze the influence of probiotic supplementation on the plasma metabolite profile after RYGB.

2. Materials and methods

2.1 Study Design

This randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial was conducted after approval of the Research Ethics Committee of the Pontifical Catholic University of Paraná (PUCPR) (n° 4.252.808) and was registered in the Brazilian Clinical Trials Registry - REBEC (n° RBR-4x3gqp).

2.2 Patient Selection, Randomization and Treatment

Thirty-one adult patients from a public hospital in Curitiba – Brazil who were candidates for RYGB, had a body mass index (BMI) ≥ 35 kg/m², who signed the informed consent form and did not use antibiotics 4 weeks prior to the beginning of the study were recruited and randomized into the placebo or probiotic group by a systematic 1:1 allocation process. The probiotic used was FloraVantage® (5 billion *Lactobacillus acidophilus* NCFM® Strain and 5 billion *Bifidobacterium lactis* Bi-07®) from Bariatric Advantage (Aliso Viejo, CA, USA), and the placebo was an inert manipulated tablet with the same color and appearance of the probiotic tablet, consisting of starch and 190 mg of lactose. Patients were instructed to take two of the chewable tablets per day for 90 days, starting on the seventh postoperative day. RYGB was performed by bariatric surgeons based on the standardization of the surgical procedure, which involves 100 cm of alimentary limb (Roux limb), jejuno-jejunal anastomosis 200 cm distal from the Treitz ligament and creation of a gastric pouch with a capacity of approximately 30 mL. Both groups received the same diet orientation and the same multivitamin and protein supplementation prescription, according to the hospital's standard protocol, and received weekly phone calls to verify adherence to the intervention protocol and to investigate possible adverse effects. Participants were evaluated at baseline - approximately 10 days before surgery (T0) - and were followed up with 45-50 days (T1) and 90-95 days (T2) after surgery.

2.3 Clinical, sociodemographic and anthropometric data

Clinical and sociodemographic data were collected from a nutritional anamnesis form and from medical records. Body weight (kg), height (m), BMI (kg/m^2), percentage of excess weight loss (% EWL), body fat (kg and %) and lean mass (kg) were included in the anthropometric assessment. BMI was calculated as body weight (kg)/height squared in meters (m^2); % EWL was calculated using the method described by Deitel et al. [14]; and body composition assessment was performed using tetrapolar impedance analysis, according to the manufacturer's instructions (BIA - 450 Bioimpedance Analyzer, Biodynamics, Seattle, USA).

2.4 Plasma analysis

Blood collection was drawn at T0, T1 and T2. Puncture was performed in the antecubital fossa using a vacuum collection system. All patients followed a 10 hour fasting protocol. The blood samples were centrifuged at 3600 rpm for 10 minutes (Centrifuge Excelsa i2206®, Fanem, São Paulo, Brazil). Thereafter, the plasma was transferred to Eppendorf tubes, properly identified and frozen at -80°C .

The plasma was thawed, homogenized and centrifuged (12.000 g for 5 minutes at 4°C) to remove any particles in suspension. Then, 200 μL of plasma was mixed with 400 μL of saline solution and 0.9% NaCl (w/v) prepared in deuterium oxide (80% deionized water and 20% D_2O) [15]. Finally, part of the supernatant (500 μL) was transferred to 5-mm NMR tubes.

Plasma metabonomics was performed using ^1H NMR spectroscopy to identify changes in metabolites after intervention. All spectra were obtained using a 400.13 MHz Bruker Avance III spectrometer (Bruker, Karlsruhe, Germany), equipped with a BBO probe (5 mm). ^1H NMR spectra were acquired with a Carr-Purcell-Meiboom-Gill pulse sequence (CPMG) to suppress plasma protein and lipoprotein signals with T_2 . PRESAT were used to suppress the water signal. Spectral processing was performed using TopSpin software (v4.0.8, Bruker Biospin). Only the region between 0.64 and 4.70 ppm showed significant signals and was therefore the region considered in the construction of the chemometric model. NMR peak assignment was performed by means of literature data [16–18].

2.5 Statistical Analysis

Fisher's exact test for count data, and Student's t-test and the Mann-Whitney test were used to characterize the sample and to verify differences between groups, considering the numerical and categorical variables. The software used to develop the analysis was R version 4.0.3 [19], considering $P < 0.05$ for statistical significance.

The ^1H NMR spectra were individually aligned with the MATLAB ICOSHIFT tool [20] using the sodium formate signal (for T_2 -edited ^1H NMR) and methyl resonance (for diffusion-edited ^1H NMR) as the shift references. NPLS-DA was used to differentiate the patients before and after RYGB, and the analysis was performed in the N-way toolbox for MATLAB [21].

3. Results

Of the 31 patients initially selected, 2 were excluded, one due to inadequate use of probiotics and the other due to anomalous sampling behavior in the statistical model. Thus, samples from 29 patients – 16 from the placebo group and 13 from the probiotic group – were analyzed at T0, T1 and T2.

The baseline demographic and clinical variables analyzed were similar in both groups, except for age, which was significantly higher in the placebo group ($p=0.03$) (Table 1). Patient anthropometric data before and after intervention are summarized in Table 2.

Table 1. Clinical and demographic baseline characteristic of study patients randomized into the placebo and probiotic groups.

| | Placebo Group | Probiotic Group | <i>p</i> value ^a |
|---------------------|------------------|-------------------|-----------------------------|
| Age (years)* | 47.00 \pm 8.47 | 37.00 \pm 12.88 | 0.03 |
| Sex | | | |
| Female [#] | 13 (81.20) | 11 (84.60) | 1.00 |

| | | | |
|-------------------------------------|------------|------------|------|
| Male [#] | 3 (18.80) | 2 (15.40) | |
| Obesity diagnosis time (years) | | | |
| < 5 years [#] | 1 (6.20) | 1 (7.70) | 1.00 |
| ≥ 5 years [#] | 15 (93.80) | 12 (92.30) | |
| Physical activity [#] | 9 (56.20) | 6 (46.20) | 0.71 |
| Current smokers [#] | 1 (6.20) | 0 (0.00) | 1.00 |
| Drinking alcohol [#] | 2 (12.50) | 1 (7.70) | 1.00 |
| Previous Comorbidities | | | |
| Hypertension [#] | 10 (62.50) | 4 (30.80) | 0.13 |
| Type 2 Diabetes [#] | 4 (25.00) | 1 (7.70) | 0.34 |
| Dyslipidemia [#] | 5 (31.20) | 9 (69.20) | 0.06 |
| Hepatic steatosis [#] | 10 (62.50) | 12 (92.30) | 0.09 |
| Medications used | | | |
| Metformin [#] | 5 (31.20) | 2 (15.40) | 0.41 |
| Proton pump inhibitors [#] | 3 (18.80) | 1 (7.70) | 0.60 |

*Values are represented by mean ± SD

[#]Values are represented by *n* (%)

^aBetween-group at the baseline, based on T-student test and Fisher's Exact Test for Count Data

Table 2. Anthropometric data of study patients before and after intervention.

| | | T0 | T1 | T2 |
|--------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|
| BMI (kg/m ²) | Placebo Group | 45.13 (6.75) | 38.58 (6.25) | 35.96 (6.10) |
| | Probiotic Group | 41.94 (6.47) | 36.65 (6.12) | 34.62 (6.89) |
| | <i>p</i> value ^a | 0.20 | 0.42 | 0.50 |
| EWL (%) | Placebo Group | - | 33.02 (12.69) | 49.55 (15.84) |
| | Probiotic Group | - | 33.42 (8.77) | 51.43 (10.73) |
| | <i>p</i> value ^a | - | 0.61 | 0.70 |
| Body Fat (kg) | Placebo Group | 50.21 (10.42) | 40.09 (10.46) | 34.30 (10.76) |
| | Probiotic Group | 51.38 (16.30) | 39.60 (12.38) | 34.32 (11.99) |
| | <i>p</i> value ^a | 0.65 | 0.82 | 1.00 |
| Lean body Mass (kg) | Placebo Group | 60.84 (11.41) | 56.92 (8.27) | 55.80 (7.81) |
| | Probiotic Group | 62.55 (13.77) | 60.12 (11.80) | 57.52(10.37) |
| | <i>p</i> value ^a | 0.94 | 0.71 | 0.49 |

BMI body mass index, EWL (%) percentage excess weight loss, T1 baseline, T2 6 weeks after intervention, T3 12 weeks after intervention
 Values are represented by mean \pm SD
p value^a Between-group, based on T-student test and Mann Whitney

According to the NPLS-DA model, it was possible to detect significant changes in the metabolic profile. The temporal loading of the model revealed that the changes were more significant at T1 than at T2.

The score graph showed separation between the samples from the placebo and probiotic groups. Only sample number 24, belonging to the placebo group, had a different classification in the model. Probiotic supplementation showed mostly positive scores in the first factor of the score graph (Figure 1).

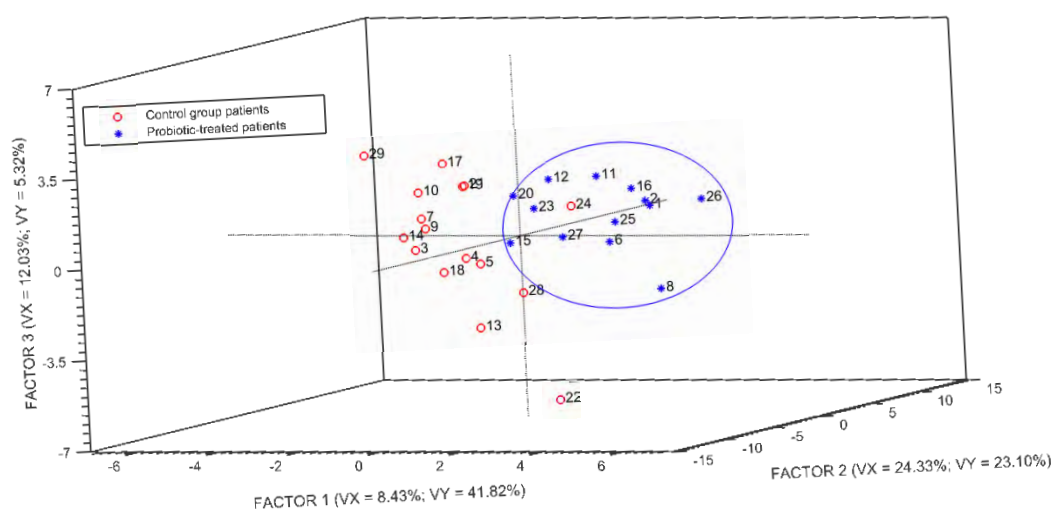


Figure 1. First three scores factors from NPLS-DA model showing a clear cluster separation of the placebo (o-red) and probiotic (*-blue) group. The NPLS-DA model was based on the ¹H NMR data of plasma collected from subjects in three different moments (T0, T1, T2) after bariatric surgery. Subjects supplemented with probiotic achieved positive scores on the first factor of NPLS-DA model, showing a metabolic profile distinct to placebo group.

Comparing the first factor of the spectral loading of the NPLS-DA model with a spectrum of a reference sample, it was possible to highlight several changes associated with probiotic supplementation. BCAAs (valine, leucine and isoleucine), trimethylamine N-oxide (TMAO), lactate, acetate, glucose, alanine, lipids, β -hydroxybutyrate (BHB) and acetoacetate were the metabolites that changed compared to the placebo group (Figure 2).

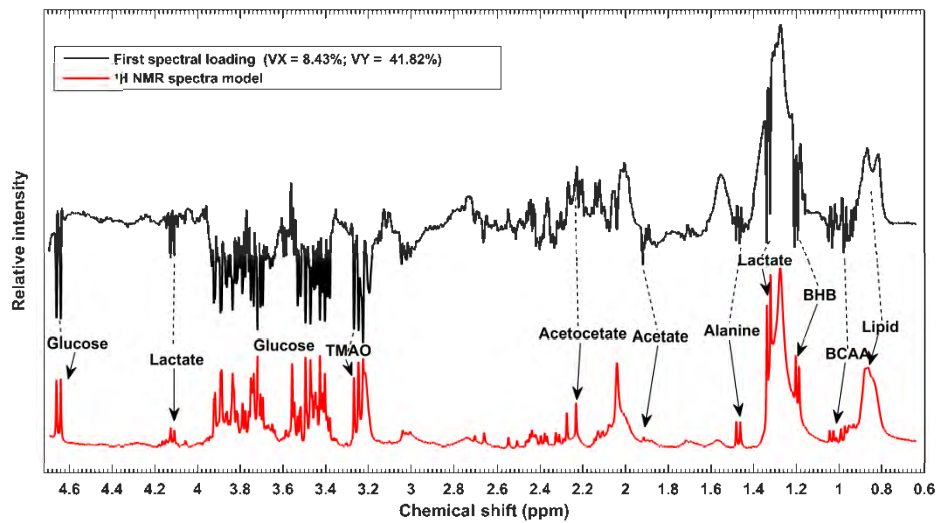


Figure 2. A representative ^1H NMR spectra (bottom line, red) comparing with the first spectral loading from the NPLS-DA model (top line, black). Positives loadings (top line, black) are associated with NMR signals related to metabolites found in higher level on probiotic group (the most significant signal were assigned to the respective metabolite), while negative loadings are associated with metabolites found in higher level in the placebo group.

After relative quantification, the results showed a time-dependent reduction in BCAA levels and an increase in acetoacetate levels throughout the postoperative period regardless of probiotic supplementation. Moreover, the opposite results were observed in the acetate levels between groups, with reduced levels in the placebo group, while in the probiotic group, there was an increase, followed by stabilization similar to the initial values after 90 days. Although the lactate levels were reduced at T1 and T2, they remained higher in the probiotic group than in the placebo group during the postoperative period (Figure 3, Table S1 - supplementary material).

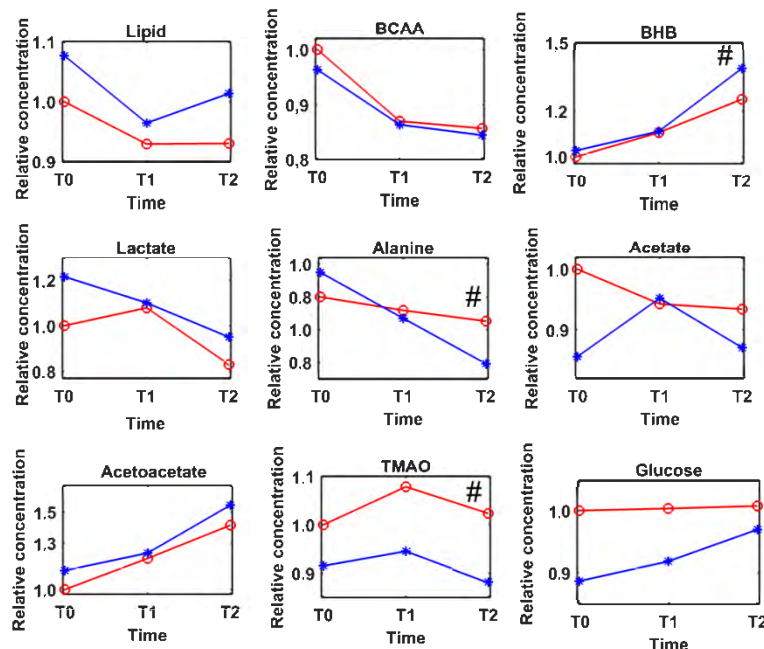


Figure 3. Trajectories of the postprandial states, shown as fold-changes compared to the baseline levels. Legend: control group (-o-) in red and for patients who received probiotic supplementation (*-) in blue; # $p < 0.05$.

Table S1. Relative changes observed in the concentrations of metabolites highlighted in the chemometric analysis for the placebo group and probiotic group.

| Compound | Chemical Shift (δ) | Alteration | | Concentration of metabolite fold to basal level | | |
|--------------|-----------------------------|------------|------------------------------|---|-------------|-------------|
| | | | | T0 | T45 | T90 |
| Lipid | 0.8 ppm | Increased | Placebo group ^a | 1.00 | 0.93 | 0.93 |
| | | | Probiotic group ^b | 1.08 | 0.96 | 1.01 |
| | | | Difference (%) ^c | 7.67 | 3.76 | 8.94 |
| | | | <i>p</i> -value ^d | 0.35 | 0.59 | 0.11 |
| BCAA | 0.98 ppm | Decrease | Placebo group | 1.00 | 0.87 | 0.86 |
| | | | Probiotic group | 0.96 | 0.86 | 0.85 |
| | | | Difference (%) | -3.64 | -0.72 | -1.44 |
| | | | <i>p</i> -value | 0.30 | 0.83 | 0.66 |
| BHB | 1.20 ppm | Increased | Placebo group | 1.00 | 1.11 | 1.25 |
| | | | Probiotic group | 1.03 | 1.11 | 1.39 |
| | | | Difference (%) | 2.75 | 0.47 | 10.77 |
| | | | <i>p</i> -value | 0.72 | 0.09 | 0.03 |
| Lactate | 1.34 ppm | Increased | Placebo group | 1.00 | 1.08 | 0.83 |
| | | | Probiotic group | 1.21 | 1.10 | 0.95 |
| | | | Difference (%) | 21.46 | 2.01 | 14.45 |
| | | | <i>p</i> -value | 0.24 | 0.88 | 0.19 |
| Alanine | 1.45 ppm | Decrease | Placebo group | 1.00 | 0.96 | 0.93 |
| | | | Probiotic group | 1.07 | 0.93 | 0.80 |
| | | | Difference (%) | 7.47 | -2.53 | -14.03 |
| | | | <i>p</i> -value | 0.21 | 0.68 | 0.03 |
| Acetate | 1.91 ppm | Decrease | Placebo group | 1.00 | 0.94 | 0.93 |
| | | | Probiotic group | 0.86 | 0.95 | 0.87 |
| | | | Difference (%) | -14.45 | 1.02 | -6.80 |
| | | | <i>p</i> -value | 0.15 | 0.92 | 0.47 |
| Acetoacetate | 2.21 ppm | Increased | Placebo group | 1.00 | 1.20 | 1.41 |
| | | | Probiotic group | 1.12 | 1.24 | 1.54 |
| | | | Difference (%) | 12.27 | 2.90 | 9.16 |
| | | | <i>p</i> -value | 0.10 | 0.70 | 0.38 |
| TMAO | 3.26 ppm | Decrease | Placebo group | 1.00 | 1.08 | 1.02 |
| | | | Probiotic group | 0.92 | 0.95 | 0.88 |
| | | | Difference (%) | -8.45 | -12.33 | -13.82 |
| | | | <i>p</i> -value | 0.10 | 0.10 | 0.01 |

^aAverage obtained for subjects in the placebo group; ^bAverage obtained for subjects in the probiotics group; ^cdifference between the average concentration of the placebo group and the probiotic group; ^d*p*-value achieved from Student's *t*-Test. **Legend:** BCAA, branched chain amino acids; BHB, beta-hydroxybutyrate; TMAO, Trimethylamine N-oxide.

In addition, the groups also differed in glucose and lipid levels. The glucose levels increased in a time-dependent manner compared to T0 in the probiotic group but remained smaller than those in

the placebo group at T1 and T2. Lipid levels decreased at T1 compared to T0 for both groups, followed by an increase and stabilization in the probiotic and placebo groups at T2 (Figure 3, Table 1 - supplementary material). Probiotic supplementation was also associated with significant differences in plasma metabolite levels. TMAO levels were reduced in both groups during the postoperative period. However, this reduction was 13.82% greater in the probiotic group ($p=0.01$) at T2. Likewise, alanine decreased in both groups; however, the reduction was 14.03% greater in the probiotic group at T2 ($p=0.03$). In parallel, there was an increase in the levels of BHB in the postoperative period in both groups, with a difference 10.77% greater in the probiotic group ($p=0.03$) than in the placebo group at T2 (Figure 3, Table 1 - supplementary material).

4. Discussion

Recently, the literature has associated the composition and diversity of the intestinal microbiota with metabolic changes [8,22,23]. Given that RYGB alters the microbiota and certain metabolites of individuals after surgery [10], the influence of probiotic supplementation on metabolic health after RYGB remains to be investigated. For this purpose, a metabonomics profile study, which assesses the dynamic alterations of the metabolome before and after an intervention, was investigated in the present study.

To the best of our knowledge, this is the first randomized, double-blind placebo-controlled study that analyzed the effects of supplementation with *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 on the plasma metabolite profile after RYGB using NMR.

Corroborating the literature, significant changes in the metabolic profile were observed mainly at T1, according to the NPLS-DA model, without discrimination between surgery or treatment, and were similar in both groups. These changes can be associated with the known changes in the early RYGB postoperative period, including metabolic improvements that can occur days or weeks after RYGB, regardless of weight loss [24,25]. Many mechanisms have been proposed for this process, such as caloric restriction, rearrangement of the gastrointestinal tract and its relevance in carbohydrate metabolism regulation, changes in neuronal and hormonal secretions, and changes in the microbiota [24,26,27].

Obese patients have elevated levels of BCAAs, which are positively correlated with insulin resistance, type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease [28]. The literature shows that obese patients with type 2 diabetes mellitus exhibit downregulation of the BCAA degradation pathways in adipose tissue (visceral and subcutaneous), resulting in an increase in circulating metabolite levels [29]. In contrast, studies in patients after RYGB (2-3 weeks, 3 and 10 months) showed a reduction in plasma levels of BCAAs [28,30,31], which is in accordance with our results that showed decreases in both groups at T1 and T2, regardless of probiotic supplementation. This reduction can be predominantly associated with the intestinal deviation associated with the surgical technique, alteration in the digestion and absorption of nutrients and increased expression of the catabolic gene (BCCATm - [human mitochondrial branched-chain aminotransferase]) in adipose tissue [28,32].

In general, in addition to BCAAs, a higher lactate concentration in obese individuals is considered a risk indicator for metabolic diseases [33,34]. This fact is associated with the compensatory mechanism in the production of lactate due to a reduction of up to 40% in the muscular oxidation of glucose and fatty acids in these patients, compromising the production of ATP from aerobic substrate oxidation [35–37]. Surgical interventions to treat obesity, such as RYGB, were associated with a reduction in plasma lactate levels due to increased aerobic glucose oxidation, particularly in skeletal muscle [36].

In our study, we detected a reduction in lactate levels in both groups. However, despite the reduction in lactate levels between T2 and T0 in both groups, the lactate concentration remained higher in the probiotic group, which may be associated with the use of lactic acid bacteria that participate in catabolic pathways, resulting in an increase in lactate production [38]. This finding may be an advantage of the use of probiotics after RYGB because the production of organic acids such as lactate inhibits the growth of potentially pathogenic microorganisms and bacteriocins, in addition to contributing to the digestive and absorption process [39].

Supplementation with probiotics also contributed to the increase in acetate levels at T1, followed by a reduction at T2, which might be correlated with reduced energy harvest and the presence

of low levels of carbohydrates and fibers from the diet after surgery [40,41]. These results are in accordance with other studies, which demonstrated that probiotic supplementation increases acetate, propionate and butyrate levels [42,43]. Furthermore, previous studies reinforce the importance of the presence of fermentable carbohydrates in the dietary composition because their fermentation products, especially short chain fatty acids (SCFAs), have been correlated with induction of an anorectic signal in the hypothalamus and positive metabolic improvements [44].

Trimethylamine N-oxide (TMAO), a well-known gut microbe-dependent metabolite, has been reported to be elevated in obese individuals [45]. It has been described as a pro-atherogenic metabolite, contributing to an increase in inflammatory cytokines and in the risk of atherosclerosis, leading to cardiovascular disease [46–48]. Recently, it has been shown that the interaction of the intestinal microbiota with diet components can increase the production of TMAO by converting choline, phosphatidylcholine, and carnitine from the diet into trimethylamine (TMA) in the gut and thereafter the oxidation of TMA into TMAO by liver enzymes [49].

Evidence from experimental and clinical studies emphasizes the importance of the gut microbiota in TMAO metabolism and suggests that modulation of the intestinal microbiota could result in the inactivation of the TMA synthesis pathway by mechanisms still unknown [49]. Nevertheless, *Lactobacillus acidophilus*, a strain used in our study, modulates the expression of microRNAs involved in atherogenesis, reducing apoptosis and necrosis, as well as has a proinflammatory effect in human endothelial cells treated with lipopolysaccharide (LPS) [50]. Therefore, our finding that the use of probiotics was associated with a reduction in TMAO levels at T2 ($p=0.01$) can be considered an advantage of this supplementation after RYGB.

Scientific evidence suggests that the increase in adipose tissue, associated with reduced clearance of free fatty acids (FFAs) and inhibition of insulin's antilipolytic action, are factors that contribute to higher plasma levels of lipids in obese individuals [51,52]. Elevated plasma levels are associated with insulin resistance, metabolic syndrome endothelial dysfunction and increased cardiovascular disease [53]. The results of our study showed a reduction in plasma lipid levels in both groups. However, from T1 onwards, an increase and stabilization of the lipid levels in the probiotic and placebo groups, respectively, were observed. Although the lipid fractions were not studied here, it is known that RYGB can also induce lipid catabolism, increasing lipolysis in patients immediately after surgery [54].

The mechanism responsible for the increase in lipolysis after RYGB seems to be multifactorial, including caloric restriction and an increase in the levels of GLP-1, glucagon and catecholamines, possibly contributing to the catabolic process that contributes to the increase in FFAs and ketone bodies [54]. In our study, we observed an increase in the levels of ketone bodies, such as acetoacetate and BHB, in both groups. However, it is important to note that BHB levels increased 10.77% in the probiotic group ($p = 0.03$) compared to the placebo group at T2. Considering that previous studies have shown an initial increase in basal lipolysis up to 6 months after RYGB [55–57] and the findings of this study in relation to BHB, probiotic supplementation seems to contribute to the increase in lipolysis after RYGB.

It seems that FFAs and glucose are competing energy substrates, with a reduction in glucose oxidation when the contents of FFAs are elevated [53,58]. At the end of supplementation, plasma glucose levels were lower in the probiotic group than in the placebo group. In addition, the reduction in alanine levels, a gluconeogenic amino acid associated with diabetes mellitus remission 1 year after RYGB [59], was significantly greater (14.03%, $p=0.03$) in the probiotic group. This finding highlights the role of probiotics in glucose homeostasis through multiple mechanisms of action, such as increased glucagon-like peptide-1, peptide YY and insulin and decreased glucagon secretion [60].

For the first time, we investigated the metabolomics profile of patients supplemented with probiotics after RYGB in a double-blind, placebo-controlled study. Nonetheless, the small sample size and the absence of metabolite characterization, e.g., lipid fractions, are the main limitations of this study.

In conclusion, supplementation with *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 in individuals after RYGB is associated with a significant reduction in TMAO and alanine levels, as well as an increase in BHB, which are relevant plasma metabolites associated with an improvement in metabolic health. Additional studies, including longer probiotic supplementation times and evaluations of the mechanisms of action in the metabolic pathways, are needed to confirm these results.

Author Contributions: M.R.Z.R.; L.C.O.; N.R.F.W., I.F., M.R.R.C. and A.C.L.C contributed to the conception and design of the study. M.R.Z.R.; L.C.O.; N.R.F.W. were responsible for data collect. M.R.Z.R., I.F., F.C.H.B., T.I.B.L., M.S.M., L.R.R., J.V.Z., F.C.M.J. and A.C.L.C were responsible for the analysis, and/or interpretation and discussion of the data. L.V.A.L. was responsible for the graphical abstract. M.R.Z.R., L.V.A.L. and F.C.H.B submitted the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received financial support from the CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel). CAPES had no influence on the writing, submission or any other part of research formulation.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Research Ethics Committee of the Pontifical Catholic University of Paraná (PUCPR) (nº 4.252.808) and was registered in the Brazilian Clinical Trials Registry - REBEC (nºRBR-4x3gqp).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest. The probiotics were donated by Bariatric Advantage (Aliso Viejo, California, United States) and placebo and glucose by Dermatologica Pharmacy (Curitiba, Paraná, Brazil). The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Wang, F.G.; Yan, W.M.; Yan, M.; Song, M.M. Outcomes of Mini vs Roux-en-Y gastric bypass: A meta-analysis and systematic review. *Int J Surg*. **2018**, *56*, 7–14. DOI: 10.1016/j.ijsu.2018.05.009
2. Buchwald, H.; Avidor, Y.; Braunwald, E.; Jensen, M.D.; Pories, W.; Fahrbach, K.; Schoelles, K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. **2004**, *292*, 1724–1737. DOI: 10.1016/j.ijsu.2018.05.009
3. Lager, C.J.; Esfandiari, N.H.; Luo, Y.; Subauste, A.R.; Kraftson, A.T.; Brown, M.B.; et al. Metabolic Parameters, Weight Loss, and Comorbidities 4 Years After Roux-en-Y Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy. *Obes Surg*. **2018**, *28*, 3415–3423. DOI: 10.1007/s11695-018-3346-1
4. Adams, T.D.; Davidson, L.E.; Litwin, S.E.; Kim, J.; Kolotkin, R.L.; Nanjee, M.N.; et al. Weight and metabolic outcomes 12 years after gastric bypass. *N Engl J Med*. **2017**, *377*, 1143–1155. DOI: 10.1056/nejmoa1700459
5. Li, J.V.; Ashrafian, H.; Bueter, M.; Kinross, J.; Sands, C.; Le Roux, C.W.; et al. Metabolic surgery profoundly influences gut microbial - Host metabolic cross-talk. *Gut* **2011**, *60*, 1214–1223. DOI: 10.1136/gut.2010.234708
6. Assal, K.A.; Prifti, E.; Belda, E.; Sala, P.C.K.; Dao, M.; et al. Gut Microbiota Profile of Obese Diabetic Women Submitted to Roux-en-Y Gastric Bypass and Its Association with Food Intake and Postoperative Diabetes Remission. *Nutrients*. **2020**, *12*, 278. DOI: 10.3390/nu12020278
7. Pajecski, D.; de Oliveira, L.C.; Sabino, E.C.; de Souza-Basqueira, M.; Dantas, A.C.B.; Nunes, G.C.; et al. Changes in the intestinal microbiota of superobese patients after bariatric surgery. *Clinics* **2019**, *74*, e1198. DOI: 10.6061/clinics/2019/e1198
8. Kong, L.C.; Tap, J.; Aron-Wisnewsky, J.; Pelloux, V.; Basdevant, A.; Bouillot, J.L.; et al. Gut microbiota after gastric bypass in human obesity: increased richness and associations of bacterial genera with adipose tissue genes. *Am J Clin Nutr*. **2013**, *98*, 16–24. DOI: 10.3945/ajcn.113.058743
9. Ilhan, Z.E.; Dibaise, J.K.; Isern, N.G.; Hoyt, D.W.; Marcus, A.K.; Kang, D.W.; et al. Distinctive microbiomes and metabolites linked with weight loss after gastric bypass, but not gastric banding. *ISME J* **2017**, *11*, 2047–2058. DOI: 10.1038/ismej.2017.71
10. Samczuk, P.; Ciborowski, M.; Kretowski, A. Application of metabolomics to study effects of bariatric surgery. *J Diabetes Res. Hindawi* **2018**, ID 6270875. DOI: 10.1155/2018/6270875
11. Lee, E.S.; Song, E.J.; Nam, Y. Do.; Lee, S.Y. Probiotics in human health and disease: from nutraceuticals to probiotics. *J Microbiol*. **2018**, *56*, 773–782. DOI: 10.1007/s12275-018-8293-y
12. Vandenplas, Y.; Huys, G.; Daube, G. Probiotics: An update. *J Pediatr (Rio J)*. **2015**, *91*, 6–21. DOI: 10.1016/j.jpeds.2014.08.005
13. Chung, H.J.; Sim, J.H.; Min, T.S.; Choi, H.K. Metabolomics and lipidomics approaches in the science of probiotics: A review. *J Med Food*. **2018**, *21*, 1086–1095. DOI: 10.1089/jmf.2017.4175
14. Deitel, M.; Gawdat, K.; Melissas, J. Reporting weight loss. *Obes Surg*. **2007**, *17*, 1275–1276. DOI: 10.1007/s11695-007-9218-8
15. Beckonert, O.; Keun, H.C.; Ebbels, T.M.D.; Bundy, J.; Holmes, E.; Lindon, J.C.; et al. Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts. *Nat Protoc*. **2007**, *2*, 2692–2703. DOI: 10.1038/nprot.2007.376
16. Foxall, P.J.D.; Spraul, M.; Farrant, S.R.D.; Lindon, L.C.; Neild, G.H. 750 MHz ¹H-NMR spectroscopy plasma of human blood. *Analysis*. **1993**, *11*, 267–276. DOI: 10.1016/0731-7085(93)80017-u
17. Bell, J.D.; Brown, J.C.C.; Nicholson, J.K.; Sadler, P.J. Assignment of resonances for “acute-phase” glycoproteins in high resolution proton NMR spectra of human blood plasma. *FEBS Lett*. **1987**, *215*, 311–315. DOI: 10.1016/0014-5793(87)80168-0

18. Fan, T.W.M. Metabolite profiling by one- and two-dimensional NMR analysis of complex mixtures. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.* **1996**, 28, 161–219. DOI: 10.1016/0079-6565(95)01017-3
19. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; **2020**. Available from: <http://www.r-project.org/index.html>
20. Savorani, F.; Tomasi, G.; Engelsen, S.B. icoshift: A versatile tool for the rapid alignment of 1D NMR spectra. *J Magn Reson.* **2010**, 202, 190–202. DOI: 10.1016/j.jmr.2009.11.012
21. Andersson, C.A.; Bro R. The N-way Toolbox for MATLAB. *Chemom Intell Lab Syst.* **2000**, 52, 1–4. DOI: 10.1016/S0169-7439(00)00071-X
22. Furet, J.P.; Kong, L.C.; Tap, J.; Poitou, C.; Basdevant, A.; Bouillot, J.L.; et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: Links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes.* **2010**, 59, 3049–3057. DOI: 10.2337/db10-0253
23. Murphy, R.; Tsai, P.; Jüllig, M.; Liu, A.; Plank, L.; Booth, M. Differential changes in gut microbiota after gastric bypass and sleeve gastrectomy bariatric surgery vary according to diabetes remission. *Obes Surg.* **2017**, 27, 917–925. DOI: 10.1007/s11695-016-2399-2
24. Cornejo-Pareja, I.; Clemente-Postigo, M.; Tinahones, F.J. Metabolic and Endocrine Consequences of Bariatric Surgery. *Front Endocrinol (Lausanne).* **2019**, 10:626. DOI: 10.3389/fendo.2019.00626
25. Clemente-Postigo, M.; Roca-Rodriguez, M.D.M.; Camargo, A.; Ocaña-Wilhelmi, L.; Cardona, F.; Tinahones, F.J. Lipopolysaccharide and lipopolysaccharide-binding protein levels and their relationship to early metabolic improvement after bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis.* **2015**, 11, 933–939. DOI: 10.1016/j.soard.2014.11.030
26. Ashrafian, H.; le Roux, C.W. Metabolic surgery and gut hormones - A review of bariatric entero-humoral modulation. *Physiol Behav.* **2009**, 97, 620–631. DOI: 10.1016/j.physbeh.2009.03.012
27. Haluzík, M.; Kratochvílová, H.; Haluzíková, D.; Mráz, M. Gut as an emerging organ for the treatment of diabetes: Focus on mechanism of action of bariatric and endoscopic interventions. *J Endocrinol.* **2018**, 237:R1–17. DOI: 10.1530/JOE-17-0438
28. Lips, M.A.; Van Klinken, J.B.; Van Harmelen, V.; Dharuri, H.K.T.; Hoen, P.A.C.; Laros, J.F.J., et al. Roux-en-Y gastric bypass surgery, but not calorie restriction, reduces plasma branched-chain amino acids in obese women independent of weight loss or the presence of type 2 diabetes. *Diabetes Care.* **2014**, 37, 3150–3156. DOI: 10.2337/dc14-0195
29. Dharuri, H.; Hoen, P.A.C.; van Klinken, J.B.; Henneman, P.; Laros, J.F.J.; Lips, M.A.; et al. Downregulation of the acetyl-CoA metabolic network in adipose tissue of obese diabetic individuals and recovery after weight loss. *Diabetologia.* **2014**, 57, 2384–2392. DOI: 10.1007/s00125-014-3347-0
30. Lopes, T.I.B.; Geloneze, B.; Pareja, J.C.; Calixto, A.R.; Ferreira, M.M.C.; Marsaioli, A.J. Blood metabolome changes before and after bariatric surgery: A 1H NMR-based clinical investigation. *Omi A J Integr Biol.* **2015**, 19, 318–327. DOI: 10.1089/omi.2015.0009
31. Wijayathunga, N.N.; Sams, V.G.; Dawson, J.A.; Mancini, M.L.; Mancini, G.J.; Moustaid-Moussa, N. Roux-en-Y gastric bypass surgery alters serum metabolites and fatty acids in patients with morbid obesity. *Diabetes Metab Res Rev.* **2018**, 34, e3045. DOI: 10.1002/dmrr.3045
32. She, P.; Van Horn, C.; Reid, T.; Hutson, S.M.; Cooney, R.N.; Lynch, C.J. Obesity-related elevations in plasma leucine are associated with alterations in enzymes involved in branched-chain amino acid metabolism. *Am J Physiol Metab.* **2007**, 293, e1552–63. DOI: 10.1152/ajpendo.00134.2007
33. Juraschek, S.P.; Palamaner, G.; Shantha, S.; Chu, A.Y.; Iii ERM, Guallar E, et al. Lactate and Risk of Incident Diabetes in a Case-Cohort of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **2013**, 8, e55113. DOI: 10.1371/journal.pone.0055113
34. Chen, Y.D.; Varasteh, B.B.; Reaven, G.M.R. Plasma lactate concentration in obesity and type 2 diabetes. *Diabete Metab.* **1993**, 19, 348–354. PMID: 8293860.
35. Berggren, J.R.; Boyle, K.E.; Chapman, W.H.; Houmard, J.A. Skeletal muscle lipid oxidation and obesity : influence of weight loss and exercise. **2021**, 27858, 726–732. DOI: 10.1152/ajpendo.00354.2007
36. Jones, T.E.; Pories, W.J.; Houmard, J.A.; Tanner, C.J.; Zheng, D.; Zou, K.; Coen, P.M.; Goodpaster, B.H.; Kraus, W.E.; Dohm, G.L. Plasma lactate as a marker of metabolic health: implications of elevated lactate for impairment of aerobic metabolism in the metabolic syndrome. *Surgery.* **2019**, 166, 861–866. DOI: 10.1016/j.surg.2019.04.017
37. Houmard, J.A.; Pories, W.J.; Dohm, G.L. Is there a metabolic program in the skeletal muscle of obese individuals? **2011**, 250496. DOI: 10.1155/2011/250496
38. Fernández, M.; Zúñiga, M. Amino acid catabolic pathways of lactic acid bacteria. *Crit Rev Microbiol.* **2006**; 32, 155–183. DOI: 10.1080/10408410600880643
39. Vieco-Saiz, N.; Belguesmia, Y.; Raspoet, R.; Auclair, E.; Gancel, F.; Kempf, I.; et al. Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food-animal production. *Front Microbiol.* **2019**, 10, 1–17. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00057
40. Patrone, V.; Vajana, E.; Minuti, A.; Callegari, M.L.; Federico, A.; Loguercio, C.; et al. Postoperative changes in

- fecal bacterial communities and fermentation products in obese patients undergoing bilio-intestinal bypass. *Front Microbiol.* **2016**, 7, 1–13. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00200
41. Brinkworth, G.D.; Noakes, M.; Clifton, P.M.; Bird, A.R. Comparative effects of very low-carbohydrate, high-fat and high-carbohydrate, low-fat weight-loss diets on bowel habit and faecal short-chain fatty acids and bacterial populations. *Br J Nutr.* **2009**, 101, 1493–1502. DOI: 10.1017/S0007114508094658
 42. Wang, L.; Zhang, J.; Guo, Z.; Kwok, L.; Ma, C.; Zhang, W. et al. Effect of oral consumption of probiotic *Lactobacillus planatarum* P-8 on fecal microbiota, SIgA, SCFAs, and TBAs of adults of different ages. *Nutrition* **2014**, 30, 776–783. DOI: 10.1016/j.nut.2013.11.018
 43. Pérez-Burillo, S.; Pastoriza, S.; Gironés, A.; Avellaneda, A.; Pilar Francino, M.; Rufián-Henares, J.A. Potential probiotic salami with dietary fiber modulates metabolism and gut microbiota in a human intervention study. *J Funct Foods* **2020**, 66, 103790. DOI: 10.1016/j.jff.2020.103790
 44. Frost, G.; Sleeth, M.L.; Sahuri-Arisoylu, M.; Lizarbe, B.; Cerdan, S.; Brody, L.; et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun.* **2014**, 5, 3611. DOI: 10.1038/ncomms4611
 45. Dehghan, P.; Farhangi, M.A.; Nikniaz, L.; Nikniaz, Z. Asghari-Jafarabadi, M. Gut microbiota-derived metabolite trimethylamine N-oxide (TMAO) potentially increases the risk of obesity in adults: An exploratory systematic review and dose-response meta-analysis. *Obes Rev.* **2020**, 21, 1–10. DOI: 10.1111/obr.12993
 46. Gruppen, E.G.; Garcia, E.; Connelly, M.A.; Jeyarajah, E.J.; Otvos, J.D.; Bakker, S.J.L, et al. TMAO is Associated with Mortality: Impact of Modestly Impaired Renal Function. *Sci Rep.* **2017**, 7, 1–9. DOI: 10.1038/s41598-017-13739-9
 47. Haghighia, A.; Li, X.S.; Liman, T.G.; Bledau, N.; Schmidt, D.; Zimmermann, F.; et al. Gut microbiota-dependent TMAO predicts risk of cardiovascular events in patients with stroke and is related to proinflammatory monocyteS. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **2018**, 38, 2225–2235. DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.311023.
 48. Senthong, V.; Wang, Z.; Fan, Y.; Wu, Y.; Hazen, S.L.; Tang, W.H.W. Trimethylamine N-oxide and mortality risk in patients with peripheral artery disease. *J Am Heart Assoc.* **2016**, 5, 1–8. DOI: 10.1161/JAHA.116.004237
 49. Din, A.U.; Hassan, A.; Zhu, Y.; Yin, T.; Gregersen, H.; Wang, G. Amelioration of TMAO through probiotics and its potential role in atherosclerosis. *Appl Microbiol Biotechnol.* **2019**, 103, 9217–9228. DOI: 10.1007/s00253-019-10142-4
 50. Kalani, M.; Hodjati, H.; Sajedi Khanian, M.; Doroudchi, M. *Lactobacillus acidophilus* Increases the Anti-apoptotic Micro RNA-21 and Decreases the Pro-inflammatory Micro RNA-155 in the LPS-Treated Human Endothelial Cells. *Probiotics Antimicrob Proteins.* **2016**, 8, 61–72. DOI: 10.1007/s12602-016-9214-1
 51. Jensen, M.D.; Haymond, M.W.; Rizza, R.A.; Cryer, P.E.; Miles, J.M. Influence of Body Fat Distribution Free Fatty Acid Metabolism in Obesity. **1989**, 83, 1168–1173. DOI: 10.1172/JCI113997
 52. Boden, G.; Carnell, L.H. Obesity and Free Fatty Acids (FFA). *Endocrinol Metab Clin North Am.* **2008**, 37:635–ix. DOI: 10.1016/j.ecl.2008.06.007
 53. Boden, G.; Shulman, G.I. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. *Eur J Clin Invest.* **2002**, 32, 14–23. DOI: 10.1046/j.1365-2362.32.s3.3.x.
 54. Kullberg, J.; Sundbom, M.; Haenni, A.; Freden, S.; Johansson, L.; Peter, B.; et al. Gastric Bypass Promotes More Lipid Mobilization Than a Similar Weight Loss Induced by Low-Calorie Diet. *J Obes.* **2011**, ID 959601. DOI: 10.1155/2011/959601
 55. Jacobsen, S.H.; Bojsen-møller, K.N.; Dirksen, C.; Jørgensen, N.B. Effects of gastric bypass surgery on glucose absorption and metabolism during a mixed meal in glucose-tolerant individuals. *Diabetologia* **2013**, 56, 2250–2254. DOI: 10.1007/s00125-013-3003-0
 56. Klein, S.; Mittendorfer, B.; Eagon, J.C.; Patterson, B.; Grant, L.A.F.; Feirt, N.; et al. Gastric Bypass Surgery Improves Metabolic and Hepatic Abnormalities Associated With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* **2006**, 130, 1564–1572. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.01.042
 57. Hansen, M.; Lund, M.T.; Gregers, E.; Kraunsøe, R.; Hall, G.V.; Helge, J.W.; et al. Adipose Tissue Mitochondrial Respiration and Lipolysis Before and After a Weight Loss by Diet and RYGB. *Obesity* **2015**, 23, 2022–2029. DOI: 10.1002/oby.21223
 58. Randle, P.J.; Garland PB, Hales CN NE. The glucose fatty-acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet.* **1963**, 1, 785–789. DOI: 10.1016/s0140-6736(63)91500-9
 59. Lopes, T.; Geloneze, B.; Pareja, J.; Calixto, A.; Ferreira, M.; Marsaioli, A. “Omics” Prospective Monitoring of Bariatric Surgery: Roux-En-Y Gastric Bypass Outcomes Using Mixed-Meal Tolerance Test and Time-Resolved 1H NMR-Based Metabolomics. *Omi A J Integr Biol.* **2016**, 20, 415–423. DOI: [10.1089/omi.2016.0061](https://doi.org/10.1089/omi.2016.0061)
 60. Kim, Y.A.; Keogh, J.B.; Clifton, P.M. Probiotics, prebiotics, synbiotics and insulin sensitivity. *Nutr Res Rev.* **2017**, 31, 35–51. DOI: 10.1017/S095442241700018X

Author's Biography

Marília Rizzon Zaparolli Ramos. PhD Student in Surgical Clinic at Universidade Federal do Paraná (2017–2021). Master's degree

in Food and Nutrition at Universidade Federal do Paraná (2016). Specialization course in Clinical Nutrition at FEPAR (2013). Phytotherapy Specialist by Associação Brasileira de Nutrição – ASBRAN (2019). Bachelor's degree in Nutrition at Universidade Federal do Paraná (2013). Professor at Universidade Positivo.
Research interests: bariatric surgery, probiotics and microbiota.

Lígia de Oliveira Carlos. PhD Student in Surgical Clinic at Universidade Federal do Paraná (2018-2022). Master's degree in Food and Nutrition at Universidade Federal do Paraná (2016). Specialist in Enteral and Parenteral Nutrition by the Brazilian Society of Parenteral and Enteral Nutrition (2008). Specialization course in Food Quality Management at Universidade Estadual de Londrina (2002). Bachelor's degree in Nutrition at Centro Universitário Filadelfia (1999).
Research interests: probiotics, microbiota, gut-brain axis, eating behavior.

Nathalia Ramori Farinha Wagner. PhD Student in Surgical Clinic at Universidade Federal do Paraná (2020-2024). Master's degree in Food and Nutrition at Universidade Federal do Paraná (2019). Specialization course in Functional Clinical Nutrition and Herbal medicine at Pontifícia Universidade Católica do Paraná (2011). Phytotherapy Specialist by Associação Brasileira de Nutrição – ASBRAN (2019). Bachelor's degree in Nutrition at Universidade Federal do Paraná (2008). Dietist at Bariatric Surgery Ambulatory of Santa Casa de Misericórdia de Curitiba.
Research interests: bariatric surgery, probiotics and microbiota.

Ingrid Felicidade. Post-doc researcher at Universidade Estadual de Londrina (UEL - Londrina, Paraná, Brazil). Bachelor's degree in Biomedical Science (2008) and Nutrition (2020), both at Centro Universitário Filadelfia (UniFil - Londrina, Paraná, Brazil). Specialization courses in Statistics with emphasis on quantitative research (2013) at Universidade Estadual de Londrina (UEL - Londrina, Paraná, Brazil), and in Bioinformatics (2016) at Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR - Londrina, Paraná, Brazil). Master (2011) and PhD (2016; sandwich period at Maastricht University, The Netherlands - Supervisor: Dr Chris Evelo and Dr Susan Coort) in Pathology at Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP - Botucatu, São Paulo, Brazil; Supervisor: Dr Lúcia Regina Ribeiro and Dr Mário Sérgio Mantovani). Postdoctoral Fellow in Genetics (2018 and 2019) and in Collective Health and Nutrition (2019) at UNESP. Student internships at University of Eastern Finland (2012; Supervisor: Dr. Carsten Carlberg; Kuopio, Finland), Wageningen University (2009; Supervisor: Dr. Michael Müller and Dr. Guido Hooiveld), Universidade de São Paulo (USP; 2008; Supervisor: Dr. Lusânia Maria Greggi Antunes).
Research interests: vitamin D, adipose tissue biology, metabolomics and nutrigenomics.

Mário Sérgio Mantovani. Graduation at Biological Sciences (1985) from Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP-Botucatu, São Paulo, Brazil) master's at Genetics (1991) from Universidade de São Paulo (USP-Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil) and doctorate at Genetics (1996) from Universidade de São Paulo (USP-Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil). Associate Professor at the Universidade Estadual de Londrina (UEL, Londrina, Paraná, Brazil). Has experience in Genetics, focusing on Mutagenesis *in vitro*, acting on the following subjects: cell culture, genotoxicity, mutagenesis, antimutagenesis, gene expression in mammal cells. Published 142 articles in specialized journals. Coordinated the institutional Multi-laboratory of Analysis of Materials and Molecules. Member of the Brazilian Society of Genetics and Brazilian Society of the Mutagenesis and Environmental Genomics.

Luan Vitor Alves de Lima. Master's degree student in Genetics and Molecular Biology at Universidade Estadual de Londrina (UEL, Londrina, Paraná, Brazil). Bachelor's and licentiate degrees in Biology (2018) from Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP, Bandeirantes, Paraná, Brazil). He has experience in histology and morphology of the enteric nervous system, basic and applied research on Asian soybean rust resistance, scientific divulgation, genetic toxicology and molecular biology. Currently, he carries out an *in vitro* study on the cytotoxic effects of fluopsin C in cellular culture (monolayer and tumor spheroid).
Research interests: Genetic toxicology, Cell death, Gene Expression and Tumor Spheroid.

Lúcia Regina Ribeiro. Researcher of the National Research Council (CNPq), State University of São Paulo (UNESP), Brazil. Professor of Nutrigenomics (2021) Postdoctor in Toxicogenetics (1993) at Leiden University, The Netherlands; PhD (1984) in Toxicogenetics, at São Paulo University (USP) São Paulo, Brazil Master (1977) in Genetics, at Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil 40 years of experience as professor at undergraduate and graduate level, and researcher in three Brazilian universities (UFPR, UFBA and UNESP); Current and previous research interest: Toxicogenomics, Antimutagenesis, Vitamin D, adipose tissue biology, metabolomics and nutrigenomics
Memberships of professional societies: Alexander Hollaender Committee, Environmental Mutagen Society - EMS- USA (1995-1998); President of Latin American Association for Mutagenesis, Carcinogenesis and Environmental Teratogenesis (1996); Member of the Board of the International Association of Environmental Mutagen Societies (1996-2003); President and Counselor for three periods of the Brazilian Society for Mutagenesis, Carcinogenesis and Environmental Teratogenesis (1993-2002).

Thiago Inácio Barros Lopes. Graduated in Chemistry-Degree at the Federal University of Mato Grosso do Sul - UFMS (2009), Master in Organic Chemistry at the State University of Campinas - UNICAMP (2012) and PhD in Organic Chemistry at the State University of Campinas - UNICAMP (2015). Post-doctorate from the Federal University of Mato Grosso do Sul - UFMS in Nuclear Magnetic Resonance (2019). Has experience in the area of Organic Chemistry with emphasis on Nuclear Magnetic Resonance, Chemometry and Chemistry of Natural Products.

Fernanda Carla Henrique-Bana. Postdoctoral researcher at the State University of Londrina (UEL, Brazil). She graduated in Food Technology and has a PhD in Food Science from the State University of Londrina (UEL, Brazil) with sandwich period at the University of Reading (United Kingdom). She taught classes in a technical course in the National Service for Industrial Learning (SENAI, Brazil), about biotechnology in the food and beverage industry. She also taught courses on food-handling practices for the community.

Research interests: probiotics, food microbiology, good food-handling practices and metabolomics.

João Vitor de Oliveira Zimmerman. In the final stage of master's degree at Universidade Estadual de Londrina (UEL - Londrina, Paraná, Brazil). Bachelor's degree in Industrial Chemistry (2017), at Fundação Educacional do Município de Assis (FEMA – Assis, São Paulo, Brazil).

Research interests: nuclear magnetic resonance (nmr), urease enzyme and urease inhibitor.

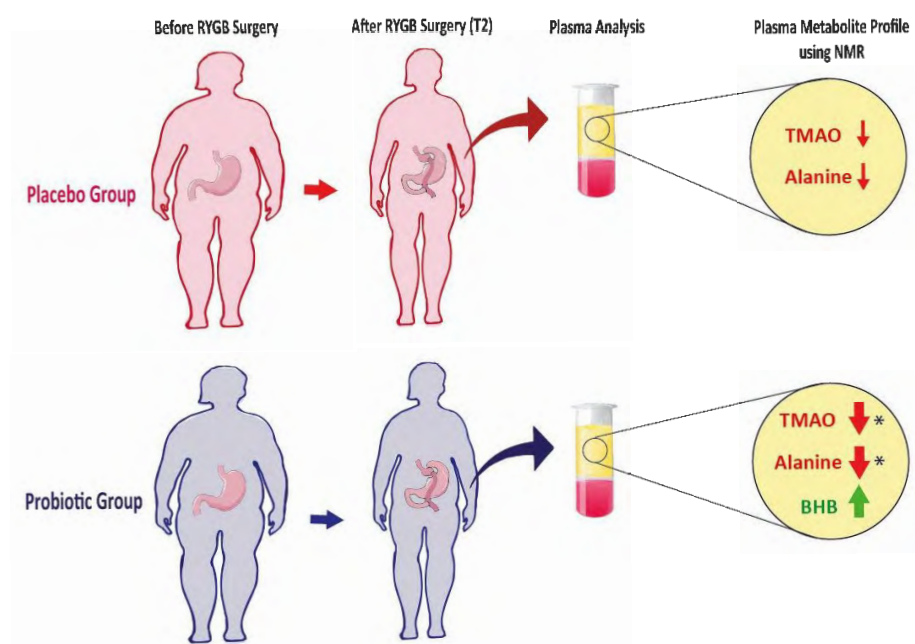
Fernando César Macedo Junior received his Ph.D. in Science from the State University of Campinas (Brazil) in 2004. He also developed research project as post-doctoral fellow at the Department of Organic Chemistry, Federal University of Bahia (Brazil) and at the Department of Molecular Biology and Biotechnology of The University of Sheffield/ UK (2013). Dr. Macedo is currently Associate Professor of the Department of Chemistry at the State University of Londrina (Brazil) where he coordinates the research group on synthesis and properties of organic compounds. His main research interests include the synthesis of bioactive molecules and the evaluation of their non-covalent interactions with macromolecules by NMR techniques.

Magda Rosa Ramos da Cruz. PhD in Surgical Clinic at Universidade Federal do Paraná. Master's degree in Health Technology at Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR). Phytotherapy Specialist by Associação Brasileira de Nutrição – ASBRAN. Bachelor's degree in Nutrition at UFPR. Dietist at Bariatric Surgery Ambulatory of PUCPR and Alcides Branco Clinic. Professor at PUCPR.

Research interests: bariatric surgery, obesity, probiotics and microbiota.

Antônio Carlos Ligocki Campos. Professor and Coordinator of the Postgraduate Program in Surgical Clinic at the Federal University of Paraná. Adjunct Professor of the Department of Nutrition at the Federal University of Paraná (1992-2014). Master and PhD in Surgical Clinic at the Federal University of Paraná. President of the Brazilian Society of Parenteral and Enteral Nutrition (1997-99) and President of the Federación Latino Americana de Nutrición Parenteral y Enteral - FELANPE (1999-2001).

Graphical Abstract



8 CONCLUSÕES

8.1 CONCLUSÃO GERAL

A suplementação com *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 no pós-operatório precoce de BGYR promove diferenças significativas em metabólitos plasmáticos associados à saúde metabólica, além de contribuir para melhora nos níveis séricos de lipídeos e de vitaminas.

8.2 CONCLUSÕES ESPECÍFICAS

Modificações nos parâmetros antropométricos foram observadas após 3 meses de BGYR, independente da suplementação com probióticos, entretanto a suplementação com probióticos no pós-operatório precoce associou-se a níveis mais elevados de vitamina D sérica.

A suplementação com *Lactobacillus acidophilus* NCFM e *Bifidobacterium lactis* Bi-07 no pós-operatório precoce de BGYR não promoveu diferenças significativas no perfil glicêmico dos pacientes, entretanto associou-se a redução significativa dos níveis séricos de triglicerídeos.

A suplementação com probióticos associou-se a alterações significativas no perfil de metabólitos plasmáticos, com redução dos níveis de TMAO e alanina, e aumento de BHB, contribuindo para melhora da saúde metabólica dos indivíduos.

REFERÊNCIAS

- ABENAVOLI, L. et al. Gut Microbiota and obesity: a role for probiotics. **Nutrients**, v. 7, n.11, p. 2690, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31703257/>. Acesso em: 25 fev. 2021.
- ADAMS, T. D. et al. Health outcomes of gastric bypass patients compared to nonsurgical, nonintervened severely obese. **Obesity**, v.18, p.121–130, 2010.
- ADAMS, T. D. et al. Weight and metabolic outcomes 12 years after gastric bypass. **N Engl J Med.**, v. 377, p. 1143–1155, 2017.
- AKBARI, A.; HENDIJANI, F. Effects of probiotic supplementation in patients with type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. **Nutrition Reviews**, v. 174, n. 12, p. 774-184, 2016.
- ANDERSSON, C. A.; BRO, R. The n-way toolbox for MATLAB. **Chemom Intell Lab Syst.**, v. 52, p. 1–4, 2000.
- ARONNE, L. J. et al. Obesity as a disease state: a new paradigm for diagnosis and treatment. **Clin Cornerstone**, v. 9, n. 4, p. 9-25.
- ASHRAFIAN, H.; LE ROUX, C. W. Metabolic surgery and gut hormones: a review of bariatric entero-humoral modulation. **Physiol Behav.**, v. 97, p. 620–631, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.03.012>. Acesso em: 15 jan. 2020.
- ASSAL, K. A. et al. Gut microbiota profile of obese diabetic women submitted to roux-en-y gastric bypass and its association with food intake and postoperative diabetes remission. **Nutrients**, v. 12, p. 278, 2020.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. São Paulo: ABESO, 2016. Disponível em: <https://abeso.org.br/wp-content/uploads/2019/12/Diretrizes-Download-Diretrizes-Brasileiras-de-Obesidade-2016.pdf>. Acesso em: 20 Set. 2020.
- BACKHED, F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proc Natl Acad Sci**, v. 101, p. 15718–1523, 2004.
- BAJAJ, J. S. et al. Randomised clinical trial: Lactobacillus GG modulates gut microbiome, metabolome and endotoxemia in patients with cirrhosis. **Aliment Pharmacol Ther.**, v. 39, p. 1113–1125, 2014.
- BECKONERT, O. et al. Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts. **Nat Protoc.**, v. 2, p. 2692–2703, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2007.376> . Acesso em: 14 fev. 2019.
- BELL, J. D. et al. Assignment of resonances for “acute-phase” glycoproteins in high resolution proton NMR spectra of human blood plasma. **FEBS Lett**, v. 215, p. 311–315, 1987.

BENAIGES, D. et al. Bariatric surgery: to whom and when? **Minerva Endocrinol.**, v. 40, n. 2, p. 119-128, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25665592/>. Acesso em: 11 Dez. 2020.

BERGGREN, J. R. et al muscle lipid oxidation and obesity : influence of weight loss and exercise. **American Physiological Society**, v. 27858, p. 726–732, 2021.

BERNARDEAU, M. et al. Safety assessment of dairy microorganisms: the lactobacillus genus. **Int J Food Microbiol.**, v. 126, p. 278–285, 2008.

BETTINI, S. C.; BETTINI, M. A. C. Tratamento cirúrgico da obesidade: procedimentos restritivos e disabsortivos. In: NETTO, B. D. M.; DÂMASO, A.; BETTINI, S. C. **Obesidade mórbida: manejo clínico e interdisciplinar**. São Paulo: Editora Unifesp, 2018.

BODEN, G. et al. Obesity and Free Fatty Acids (FFA). **Endocrinol Metab Clin North Am.**, v. 37, p. 635–ix, 2008.

BODEN, G.; SHULMAN, G. I. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. **European Journal of Clinical Investigation.**, v. 32, p. 14–23, 2002.

BORGERAAS, H. L. K. J. et al., Effects of Probiotics on Body Weight, Body Mass Index, Fat Mass and Fat Percentage in Subjects with Overweight or Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Obesity Reviews**, v. 19, n. 2, p. 219–232, 2018.

BOULANGÉ, C. L. et al. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med.*, v. 8, n. 1, p. 42, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27098727/>. Acesso em: 11 Dez. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Orientações para coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde**: Norma técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes_coleta_analise_dados_antrpometricos.pdf. Acesso em: 17 Nov. 2018.

BRINKWORTH, G. D. et al. Comparative effects of very low-carbohydrate, high-fat and high-carbohydrate, low-fat weight-loss diets on bowel habit and faecal short-chain fatty acids and bacterial populations. **British Journal of Nutrition**, v. 101, p. 1493–1502, 2009.

BUCHWALD, H., et al. Bariatric Surgery. **JAMA**, v. 292, n. 14, p. 1724, 2004. Disponível em: <https://sci-hub.se/https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15479938>. Acesso em: 10 Set. 2020.

CALIKOGLU, F. et al. The Metabolic Effects of Pre-probiotic Supplementation After Roux-en-Y Gastric Bypass (RYGB) Surgery: a Prospective, Randomized Controlled Study. **Obesity Surgery**, v. 1, p. 1- 12, 2021. Disponível em: <https://www.springermedizin.de/the-metabolic-effects-of-pre-probiotic-supplementation-after-rou/18285086>. Acesso em: 22 Abr. 2021.

CASTAÑEDA GUILLOT, C. Probiotics: An update. **Rev Cubana Pediatr.**, v. 90, p. 286–298, 2018.

CHEN, Y. D. et al. Plasma lactate concentration in obesity and type 2 diabetes. **Diabete Metab.**, v. 19, p. 348–354, 1993.

CHOI, I. D. et al. Triglyceride-lowering effects of two probiotics, *Lactobacillus plantarum* KY1032 and *Lactobacillus curvatus* HY7601, in a rat model of high-fat diet-induced hypertriglyceridemia. **J Microbiol Biotechnol.**, v. 26, p. 483–487, 2015.

CHOOI, Y. C. et al. The epidemiology of obesity. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 92, p. 6-10, 2019. Disponível em: [https://www.metabolismjournal.com/article/S0026-0495\(18\)30194-X/fulltext](https://www.metabolismjournal.com/article/S0026-0495(18)30194-X/fulltext). Acesso em: 09 Fev. 2020.

CHUNG, H. J. et al. Metabolomics and Lipidomics Approaches in the Science of Probiotics: A Review. **J Med Food.**, v. 21, n. 11, p. 1086-1095, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30004273/>. Acesso em: 23 Ago. 2020.

CIOBÂRCĂ, D. C. A. F. et al. Bariatric Surgery in obesity : effects on gut microbiota and micronutrient status. **Nutrients**, v. 12, p. 235, 2020.

CLEMENTE-POSTIGO, M. et al. Lipopolysaccharide and lipopolysaccharide-binding protein levels and their relationship to early metabolic improvement after bariatric surgery. **Surg Obes Relat Dis.**, v. 11, p. 933–939, 2015.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA (CFM). **Resolução CFM nº 1.766/2005**. Estabelece normas seguras para o tratamento cirúrgico da obesidade mórbida, definindo indicações, procedimentos aceitos e equipe. 2005. Disponível em: <https://sistemas.cfm.org.br/normas/visualizar/resolucoes/BR/2005/1766>. Acesso em: 24 Jun. 2019.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA (CFM). **Resolução CFM nº 2.172/2017**. Reconhece a cirurgia metabólica para o tratamento de pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2, com IMC entre 30 kg/m² e 34,9 kg/m², sem resposta ao tratamento clínico convencional, como técnica não experimental de alto risco e complexidade. 2017. Disponível em: <https://sistemas.cfm.org.br/normas/visualizar/resolucoes/BR/2017/2172>. Acesso em: 24 Jun. 2019.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA (CFM). **Resolução nº 2.131/2015**. Altera o anexo da Resolução CFM nº1.942/10, publicada no DOU de 12 de fevereiro de 2010, Seção 1, pág. 266. 2015. Disponível em: https://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/22175085/do1-2016-01-13-resolucao-n-2-131-de-12-de-novembro-de-2015-22174970. Acesso em: 24 Jun. 2019.

CORNEJO-PAREJA, I. et al. Metabolic and endocrine consequences of bariatric surgery. **Front Endocrinol.**, v. 10, n. 1. p. 626-646,

CUMMINGS DE, Overduin J, Foster-Schubert KE. Gastric bypass for obesity: Mechanisms of weight loss and diabetes resolution. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 89, p. 2608–2615, 2004.

DEBÉDAT, J. et al. Gut Microbiota Dysbiosis in Human Obesity: Impact of Bariatric Surgery. **Current Obesity Reports**, v. 8, p. 229–242, 2019.

DEHGHAN, P. et al. Gut microbiota-derived metabolite trimethylamine N-oxide (TMAO) potentially increases the risk of obesity in adults: an exploratory systematic review and dose-response meta- analysis. **Obes Rev.**, v. 21, p. 1–10, 2020.

DEITEL, M. et al. Reporting weight loss. **Obes Surg.**, v. 17, p. 1275, 2007.

DHARURI, H. et al. Downregulation of the acetyl-CoA metabolic network in adipose tissue of obese diabetic individuals and recovery after weight loss. **Diabetologia**, v. 57, p. 2384–2392, 2014.

DIN, A. U. et al. Amelioration of TMAO through probiotics and its potential role in atherosclerosis. **Appl Microbiol Biotechnol.**, v. 103, p. 9217–9228, 2019.

EJTAHED, H. S. et al. Adaptation of human gut microbiota to bariatric surgeries in morbidly obese patients: a systematic review. **Microb Pathog**, v. 116, p. 13–21, 2018.

ENGIN, A. The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. **Adv Exp Med Biol.**, v. 960, p. 1-17, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28585193/>. Acesso em: 12 Dez. 2019.

ENGLISH, W.J.; WILLIAMS, D. B. Metabolic and bariatric surgery: an effective treatment option for obesity and cardiovascular disease. **Prog Cardiovasc Dis.**, v. 61, p. 253–269, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2018.06.003>. Acesso em: 12 Dez. 2019.

FALCINELLI, S. et al. Influence of probiotics administration on gut microbiota core a review on the effects on appetite control, glucose, and Lipid metabolism. **J Clin Gastroenterol.**, v.52, p. S50–S56, 2018.

FAN, T.W.M. Metabolite profiling by one- and two-dimensional NMR analysis of complex mixtures. **Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.**, v. 28, p. 161–219, 1996.

FERNANDES, R. et al. Effects of Prebiotic and Synbiotic Supplementation on Inflammatory Markers and Anthropometric Indices After Roux-en-Y Gastric Bypass. **J Clin Gastroenterol.**, v. 50, p. 208–217, 2016.

FERNÁNDEZ, M.; ZÚÑIGA, M. Amino acid catabolic pathways of lactic acid bacteria. **Crit Rev Microbiol.**, v. 32, p. 155–183, 2006.

FESTI, D. et al. Gut microbiota and metabolic syndrome. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 43, p. 16079-16094, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4239493>. Acesso em: 11 Set. 2019.

FINKELSTEIN, E. A. et al. Obesity and severe obesity forecasts through 2030. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 42, n. 6, p. 563-70, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22608371/>. Acesso em: 12 Dez. 2020.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO); WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Report of a Joint FAO-WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Cordoba: FAO/WHO, 2001.

FOXALL, P. J. D. et al. 750 MHz ^1H -NMR spectroscopy plasma of human blood. **Analysis**, v. 11, p. 267–276, 1993.

FROST, G. et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. **Nat Commun.**, v. 5, p. 3611-3622, 2014.

FUENTES, M. C. et al. Cholesterol-lowering efficacy of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529 in hypercholesterolaemic adults. **British Journal of Nutrition**, v.109, p. 1866–1872, 2013.

FURET, J. P. et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: Links with metabolic and low-grade inflammation markers. **Diabetes**, v. 59, p. 3049–3057, 2010.

FURNESS, J. B. et al. Nutrient tasting and signaling mechanisms in the gut. II. The intestine as a sensory organ: neural, endocrine, and immune responses. **Am J Physiol.**, v. 277, n. 5, p. G922-G928, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10564096/>. Acesso em: 12 Dez. 2020.

GAREAU, M. G. et al. Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease.” Nature reviews. **Gastroenterology & hepatology**, v. 7, n. 9, p. 503-514, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4748966/>. Acesso em: 12 Dez. 2020.

GÉRARD, P. Gut microbiota and obesity. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 73, p. 147–162, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-015-2061-5#citeas>. Acesso em: 17 Out. 2020.

GÉRARD, P.; BERNALIER-DONADILLE, A. Les fonctions majeures du microbiote intestinal. **Cahiers de Nutrition et de Di  t  tique**, v. 42, p. S28–S36, 2007.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends Food Sci. Technol.**, v.10, p.139-157, 1999.

GOMES, A.C. et al. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. **Gut Microbes**, v. 9, n. 4, p. 308-325, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6219651/pdf/kgmi-09-04-1465157.pdf>. Acesso em: 17 Out. 2020.

GONZALEZ, A. B. et al. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. **N Engl J Med**, v. 363, n. 23, p. 2211–2219, 2011.

GRUPPEN, E. G. et al. TMAO is associated with mortality: impact of modestly impaired renal function. **Sci Rep.**, v. 7, p. 1–9, 2017.

- HAGHIKIA, A. et al. Gut microbiota-dependent TMAO predicts risk of cardiovascular events in patients with stroke and is related to proinflammatory monocyteS. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 38, p. 2225–2235, 2018.
- HALEKOH, U. et al. The R package geepack for generalized estimating equations. **J Stat Softw.**, v. 15, p. 1–11, 2006.
- HALL, C. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term:próbiotic. **Nature Reviews Gastroenteroly and Hepato**, v. 11, p. 506-514, 2014.
- HALPERIN, F. et al. Roux-en-Y gastric bypass surgery or lifestyle with intensive medical management in patients with type 2 diabetes: Feasibility and 1-year results of a randomized clinical trial. **JAMA Surg.**, v. 149, p. 716–726, 2014.
- HALUZÍK, M. et al. Gut as an emerging organ for the treatment of diabetes: Focus on mechanism of action of bariatric and endoscopic interventions. **J Endocrinol.**, v. 237, p. R1–R17, 2018.
- HANSEN, M. et al. Adipose tissue mitochondrial respiration and lipolysis before and after a weight loss by diet and RYGB. **Obesity**, v. 23, p. 2022–2029, 2015.
- HIMPENS, J. et al. **The IFSO global registry report 2018**. 4. ed. Oxfordshire: Dendrite Clinical Systems Ltd., 2018. Disponível em: <https://www.ifso.com/pdf/4th-ifso-global-registry-report-last-2018.pdf>. Acesso em: 23 Jan. 2020.
- HONG, Y. S. et al. Metabonomic understanding of probiotic effects in humans with irritable bowel syndrome. **J. Clin Gastroenterol.**, v. 45, p. 415-425, 2011.
- HOUMARD, J. A. et al. Is there a metabolic program in the skeletal muscle of obese individuals?. **Journal of Obesity**, 2011, p.1-11, 2011.
- Hruby, A. et al. The Epidemiology of obesity: a big picture. **Pharmacoeconomics**, v. 33, p. 673–689, 2015.
- ILHAN, Z.E. et al. Distinctive microbiomes and metabolites linked with weight loss after gastric bypass, but not gastric banding. **ISME Journal**, v, 11, n. 9, p. 2047–2058, 2017.
- INTERNATIONAL FEDERATION FOR THE SURGERY OF OBESITY AND METABOLIC DISORDERS (IFSO). **4 th IFSO Global Registry Report**. 2018. Disponível em: <https://www.ifso.com/pdf/4th-ifso-global-registry-report-last-2018.pdf>. Acesso em: 12 Dez. 2020.
- IONUT, V.; BERGMAN, R. N. Mechanisms responsible for excess weight loss after bariatric surgery. **J Diabetes Sci Technol.**, v.5, p. 1263–1282, 2011.
- ISLAM, S. U. Clinical Uses of Probiotics. **Medicine**, v. 95,n. 5, p. e2658, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4748908/>. Acesso em: 12 Dez. 2020.

JACKSON, V. M. et al. Latest approaches for the treatment of obesity. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 1, p. 1–15, 2015.

JACOBSEN, S. H. et al. Effects of gastric bypass surgery on glucose absorption and metabolism during a mixed meal in glucose-tolerant individuals. **Diabetologia**, v. 56, p. 2250–2254, 2013.

JENSEN, M.D. et al. Influence of body fat distribution free fatty acid metabolism in obesity. **J Clin Invest.**, v. 83, p. 1168–1173, 1989.

JIANG, J. et al. Effects of probiotic supplementation on cardiovascular risk factors in hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trial. **J Funct Foods.**, v. 74, p.104-117, 2020.

JONES, M. L. et al. Oral supplementation with probiotic *L. reuteri* NCIMB 30242 increases mean circulating 25-hydroxyvitamin D: a post hoc analysis of a randomized controlled trial. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 98, p. 2944–2951, 2013.

JONES, T.E. et al. Plasma lactate as a marker of metabolic health: implications of elevated lactate for impairment of aerobic metabolism in the metabolic syndrome. **Surgery**, v. 166, p. 861–866, 2019.

JORGENSEN, N. B. et al. Exaggerated glucagon-like peptide 1 response is important for improved beta-cell function and glucose tolerance after Roux-en-Y gastric bypass in patients with type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 62, p. 3044–3052, 2013.

JUMPERTZ, R. et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. **Am J Clin Nutr.**, v. 94, p. 58–65, 2011.

JURASCHEK, S. P. et al. Lactate and Risk of Incident Diabetes in a Case-Cohort of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC). **Study**, v. 8, p. e55113, 2013.

KALANI, M. et al. *Lactobacillus acidophilus* Increases the Anti-apoptotic Micro RNA-21 and Decreases the Pro-inflammatory Micro RNA-155 in the LPS-Treated Human Endothelial Cells. **Probiotics Antimicrob Proteins**, v. 8, p. 61–72, 2016.

KANAZAWA, A. et al. Probiotic reduces bacterial translocation in type 2 diabetes mellitus: a randomised controlled study. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 110, 2017.

KARBASCHIAN, Z. et al. Probiotic Supplementation in morbid obese patients undergoing one anastomosis gastric Bypass-Mini Gastric Bypass (OAGB-MGB) surgery: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. **Obesity Surgery**, v. 28, p. 2874–2885, 2018.

KATZ, A. et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 85, p. 2402–2410, 2000.

KHALESI, S. et al. Effect of probiotics and synbiotics consumption on serum concentrations of liver function test enzymes: a systematic review and meta-analysis. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 6, p. 2037-2053, 2018.

KIM, S. W. et al. Lactobacillus rhamnosus GG improves insulin sensitivity and reduces adiposity in high-fat diet-fed mice through enhancement of adiponectin production. **Biochem Biophys Res. Commun.**, v. 431, p. 258–263, 2013.

KIM, M. et al. Effects of weight loss using supplementation with Lactobacillus strains on body fat and medium-chain acylcarnitines in overweight individuals. **Food Funct.**, v. 8, p. 250–261, 2017.

KIM, Y. A. et al. Probiotics , prebiotics , synbiotics and insulin sensitivity. **Nutr Res Rev.**, v. 31, p. 35-51, 2017.

KIMOTO, H. et al. Cholesterol removal from media by lactococci. **J Dairy Sci.**, v. 85, p. 3182–3188, 2002.

KLAVER, F. A. M.; VAN DER MEER, R. The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and Bifidobacterium bifidum is due to their bile salt-deconjugating activity. **Appl Environ Microbiol.**, v. 59, p. 1120–1124, 1993.

KLEIN, S. et al. Gastric bypass surgery improves metabolic and hepatic abnormalities associated with nonalcoholic fatty liver disease. **Gastroenterology**, v. 130, p. 1564–1572, 2006.

KOBYLIAK ,N. et al. Probiotics in prevention and treatment of obesity: A critical view. **Nutr Metab Nutrition & Metabolism**, v.13, n. 14, p. 9-25, 2016.

KONG, L. C. et al. Gut microbiota after gastric bypass in human obesity: increased richness and associations of bacterial genera with adipose tissue genes. **Am J Clin Nutr.**, v. 98, p.16–24, 2013.

KULLBERG, J. et al. Gastric Bypass Promotes More Lipid Mobilization Than a Similar Weight Loss Induced by Low-Calorie Diet. **J Obes.** 2011.

KUMAR, M. et al. Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. **Exp Diabetes Res.**, v. 2012, p. 1-15, 2012.

KYLE, U. G. et al. Single prediction equation for bioelectrical impedance analysis in adults aged 20-94 years. **Nutrition**. v.17, p.248-253, 2001.

LAGER, C. J. et al. metabolic parameters, weight loss, and comorbidities 4 years after Roux-en-Y Gastric Bypass and sleeve gastrectomy. **Obes Surg.**,v. 28, p. 3415–3423, 2018.

LE ROUX, C. W. et al. Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. **Ann Surg.**, v. 243, p. 108–114, 2006.

LEBEER, S. et al. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. **Nat Rev Microbiol.**, n. 8, p. 171–184, 2010. Disponível em: <https://sci-hub.do/https://www.nature.com/articles/nrmicro2297>. Acesso em: 13 Set 2019.

- LEBLANC, J. G. et al. B-Group vitamin production by lactic acid bacteria - current knowledge and potential applications. **J Appl Microbiol.**, v.111, p.1297–1309, 2011.
- LEE, E. S. et al. Probiotics in human health and disease: from nutribiotics to pharmabiotics. **J Microbiol.**, v. 56, n, 11, p. 773-782, 2018.
- LEE, W. J.; ALMULAIFI, A. Recent advances in bariatric/metabolic surgery: Appraisal of clinical evidence. **J Biomed Res.**, v. 29, p. 98–104, 2015.
- LI, J. V. et al. Metabolic surgery profoundly influences gut microbial - Host metabolic cross-talk. **Journal Gut**, v. 60, p. 1214–1223, 2011.
- LINDON, J. C.; NICHOLSON, J. K. Spectroscopic and statistical techniques for information recovery in metabonomics and metabolomics. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 1, p. 45-69, 2008.
- LIOU, A. P. et al. Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. **Sci Transl Med.**, v. 5, p. 178ra141, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3652229/pdf/nihms462679.pdf>. Acesso em: 23 Nov. 2019.
- LIPS, M .A. et al. Roux-en-Y gastric bypass surgery, but not calorie restriction, reduces plasma branched-chain amino acids in obese women independent of weight loss or the presence of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 37, p. 3150–3156, 2014.
- LOPES, T. et al. Omics prospective monitoring of bariatric surgery: Roux-En-Y gastric bypass outcomes using mixed-meal tolerance test and time-resolved 1H NMR-Based metabolomics. **Omi A J Integr Biol.**, v. 20, p. 415-423, 2016.
- Lopes, T. I. B. Blood metabolome changes before and after bariatric surgery: A 1H NMR-based clinical investigation. **Omi A J Integr Biol.**, v. 19, p. 318–327, 2015.
- MASON, C. et al. Effects of weight loss on serum vitamin D in postmenopausal women. **Am J Clin Nutr.**, v. 94, p. 95–103, 2011.
- MATEUSZ, J. S. et al. Efficacy of probiotics in patients with morbid obesity undergoing bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. **Surgery for Obesity and Related Diseases**, v. 16, n. 12, p. 2105-2116, 2020. Disponível em: [https://www.soard.org/article/S1550-7289\(20\)30506-2/fulltext](https://www.soard.org/article/S1550-7289(20)30506-2/fulltext). Acesso em: 14 Jan. 2021.
- MATTHEWS, D. R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, p. 412–419, 1985.
- MAZLOOM, K. et al. Probiotics: How effective are they in the fight against obesity? **Nutrients**, v.11, p. 1–24, 2019.
- MICCHELI, A. et al. Urinary 1H-NMR-based metabolic profiling 317 of children with NAFLD undergoing VSL#3 treatment. **Int J. Obes.**, v. 39, p. 1118–1125, 2015.

MINISTÉRIO DA SAUDE. **Vigitel Brasil 2019**: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. 2020. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco.pdf. Acesso em: 12 Dez. 2020.

MIRAGHAJANI, M. et al. Potential mechanisms linking probiotics to diabetes: a narrative review of the literature. **São Paulo Med. J.**, São Paulo, v. 135, n. 2, p. 169-178, 2017. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-31802017000200169. Acesso em: 12 Dez. 2020.

MO, R. et al. Effect of probiotics on lipid profiles in hypercholesterolaemic adults: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Med Clin (Barc)**, v.152, p. 473–481, 2019.

MOKHTARI, Z. et al. The effects of probiotic supplements on blood markers of endotoxin and lipid peroxidation in patients undergoing gastric bypass surgery; a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial with 13 months follow-Up. **Obesity Surgery**, v. 29, p. 1248–1258, 2019.

MURPHY, R. et al. Differential changes in gut microbiota after gastric bypass and sleeve gastrectomy bariatric surgery vary according to diabetes remission. **Obes Surg.**, v. 27, p. 917–925, 2017.

NEFF, K. J. et al. Anti-inflammatory effects of gastric bypass surgery and their association with improvement in metabolic profile. **Expert Review of Endocrinology & Metabolism**, v. 10, n. 4, p. 435–446, 2015. Disponível em: <https://sci-hub.se/https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30293493/>. Acesso em: 24 Nov. 2019.

NEWGARD, C. B. Metabolomics and Metabolic Diseases: Where Do We Stand? **Cell Metab.**, v. 25, n. 1, p. 43-56, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28094011/>. Acesso em: 24 Nov. 2019.

NICHOLSON, J. K. et al. Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care. **Nat Rev Microbiol.**, v. 3, p. 431–438, 2005.

NICHOLSON, J. K. et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. **Science**, v. 336, p. 1262–1267, 2012.

NICHOLSON, J. K. et al. Metabonomics: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. **Xenobiotica**, v. 29, n. 1, p. 1181-1189, 1999.

PAJECKI, D. et al. Changes in the intestinal microbiota of superobese patients after bariatric surgery. **Clinics**, v. 74, p.11-28, 2019.

PALLEJA, A. et al. Roux-en-Y gastric bypass surgery of morbidly obese patients induces swift and persistent changes of the individual gut microbiota. **Genome Medicine**, v. 8, n.1, p. 67, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4908688/>. Acesso em: 24 Nov. 2019.

PATEL, J. J. et al. Micronutrient Deficiencies after Bariatric Surgery: An Emphasis on Vitamins and Trace Minerals. **Nutr Clin Pract.**, v. 32, p. 471–480, 2017.

PATRONE, V. et al. Postoperative changes in fecal bacterial communities and fermentation products in obese patients undergoing bilio-intestinal bypass. **Front Microbiol.**, v. 7, p. 1–13, 2016.

PEDERSEN, S. M. et al. A GC–MS-based metabonomic investigation of blood serum from irritable bowel syndrome patients undergoing intervention with acidified milk products. **Eur Food Res Technol.**, v. 233, p. 1013-1021, 2011.

PEREIRA, M.; GOUVEIA, F. **Modulação intestinal**: fundamentos e estratégias práticas. Brasília: Editora Trato, 2019.

PÉREZ-BURILLO, S. et al. Potential probiotic salami with dietary fiber modulates metabolism and gut microbiota in a human intervention study. **J Funct Foods**, v. 66, p. 1-14, 2020.

PLAUTH, M. et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in liver disease. **Clinical Nutrition**, v. 38, n. 2, p. 485-521, 2019.

POURRAJAB, B. et al. The impact of probiotic yogurt consumption on lipid profiles in subjects with mild to moderate hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutr Metab Cardiovasc Dis.**, p. 30, p. 11–22, 2020.

R CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 30 Set. 2019.

R CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2020. Disponível em: <http://www.r-project.org/index.html>. Acesso em: 28 Jan. 2021.

RANDLE, P. J. et al. The glucose fatty-acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. **Lancet**, v.1, p. 785–789, 1963.

RINNINELLA, E. et al. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. **Microorganisms**, v. 7, p. 1-14, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6351938>. Acesso em: 26 Jan. 2021.

RINSCHEN, M. M. et al. Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics. **Nat Rev Mol Cell Biol.**, v. 20, p. 353–367, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41580-019-0108-4>. Acesso em: 12 Dez. 2020.

ROBERTSON, D. G. Metabonomics in toxicology: a review. Toxicological Sciences: an official. **Journal of the Society of Toxicology**, v. 85, n. 2, p. 809–822, 2005.

ROUXINOL-DIAS, A. L. et al. Probiotics for the control of obesity - Its effect on weight change. **Porto Biomedical Society**, v. 1, p.12–24, 2016.

RUSSELL, D. A. et al. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. **Int J Food Microbiol.**, v. 149, p. 88–105, 2011.

RUSSELL, L. **Emmeans**: estimated marginal means, aka least-squares means. 2018. Disponível em: <https://cran.r-project.org/package=emmeans>. Acesso em: 12 Dez. 2019.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SAMCZUK, P. et al. Application of metabolomics to study effects of bariatric surgery. **J Diabetes Res. Hindawi**, v. 2018, p. 6270875, 2018. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2018/6270875/> Acesso em: 12 Dez. 2020.

SÁNCHEZ-ALCOHOLADO, L. et al. Gut microbiota adaptation after weight loss by Roux-en-Y gastric bypass or sleeve gastrectomy bariatric surgeries. **Surgery for Obesity and Related Diseases**, v. 15, n. 11, p. 1888-1895, 2019. Disponível em: [https://www.soard.org/article/S1550-7289\(19\)30984-0/fulltext](https://www.soard.org/article/S1550-7289(19)30984-0/fulltext). Acesso em: 28 Jan. 2021.

SAVORANI, F. et al. icoshift: A versatile tool for the rapid alignment of 1D NMR spectra. **J Magn Reson**, v. 202, p. 190–202, 2010.

SCHLOTTMANN, F.; BUXHOEVEDEN, R. Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass: surgical technique and tips for success. **Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques**, v. 28, n. 8, p. 938-943, 2018.

SENTHONG, V., et al. Trimethylamine N-oxide and mortality risk in patients with peripheral artery disease. **J Am Heart Assoc.**, v. 5, p. 1–8, 2016.

SHANG, M.; SUN, J. Vitamin D/VDR, probiotics, and gastrointestinal diseases. **Curr Med Chem.**, v. 24, p. 876–887, 2016.

SHE, P. et al. Obesity-related elevations in plasma leucine are associated with alterations in enzymes involved in branched-chain amino acid metabolism. **Am J Physiol Metab.**, v. 293, e1552–e1563, 2007.

SHI, X. et al. Hepatic and fecal metabolomic analysis of the effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG on alcoholic fatty liver disease in mice. **Journal of Proteome Research**, v. 14, p. 1174–1182, 2015.

SIVAMARUTHI, B. S. et al. A review on role of microbiome in obesity and antiobesity properties of probiotic supplements. **Biomed Res Int.**, v. 2019, p. 329-367, 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABÓLICA (SBCBM). **Cirurgia bariátrica cresce 84,73% entre 2011 e 2018**. 2019a. Disponível em: <https://www.sbcbm.org.br/cirurgia-bariatrica-cresce-8473-entre-2011-e-2018/>. Acesso em: 23 Nov. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABOLICA (SBCBM). **Cirurgia metabólica: técnicas cirúrgicas**. 2019b. Disponível em: <https://www.sbcbm.org.br/tecnicas-cirurgicas-metabolica/>. Acesso em: 23 Nov. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABÓLICA (SBCBM). **Número de cirurgias bariátricas no Brasil aumenta 46,7%**. 2018. Disponível em: <https://www.sbcm.org.br/numero-de-cirurgias-bariatricas-no-brasil-aumenta-467/>. Acesso em: 16 Jun. 2019.

SULLIVAN, A.; NORD, C. E. The place of probiotics in human intestinal infections. **Int J Antimicrob Agents**, v. 20, n. 5, p. 313-319, 2002.

THOMPSON, W. G. et al. Treatment of Obesity. **Mayo Clin Proc.**, v. 82, n. 1, p. 93-102, 2007. Disponível em: <https://www.mayoclinicproceedings.org/action/showPdf?pii=S0025-6196%2811%2960971-3>. Acesso em: 28 Jan. 2021.

TOMARO-DUCHESNEAU, C. et al. Cholesterol Assimilation by Lactobacillus Probiotic Bacteria: an in Vitro Investigation. **Biomed Res Int.**, v. 2014, n.1, p. 16-30, 2014.

TONATTO-FILHO, A. J. et al. Cirurgia bariátrica no sistema público de saúde brasileiro: o bom, o mau e o feio, ou um longo caminho a percorrer. Sinal amarelo!. **ABCD Arq Bras Cir Dig.**, v. 32, n. 4, p. e1470, 2019.

TONUCCI, L. B. et al. Clinical application of probiotics in type 2 diabetes mellitus: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Clin Nutr.**, v. 36, p. 85–92, 2017.

TREMAROLI, V. et al. Roux-en-Y gastric bypass and vertical banded gastroplasty induce long-term changes on the human gut microbiome contributing to fat mass regulation. **Cell Metab.**, v. 22, p. 228–238, 2015.

TREMAROLI, V.; BÄCKHED, F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. **Nature**, v. 489, n.7415, p. 242-249, 2012.

TSATSOULIS, A.; PASCHOU, S. A. metabolically healthy obesity: criteria, epidemiology, controversies, and consequences. **Curr Obes Rep. Current Obesity Reports**, v. 9, p.109–120, 2020.

ULKER, I.; YILDIRAN, H. The effects of bariatric surgery on gut microbiota in patients with obesity: A review of the literature. **Biosci Microbiota, Food Heal**, v. 38, p.3–9, 2019.

VALDES, A. M. et al. Role of the gut microbiota in nutrition and health, **BMJ**, v. 361, p. k2179, 2018. Disponível em: [https://www.bmj.com/content/361/bmj.k2179#:~:text=The%20gut%20microbiota%20provides%20essential,acids%20\(SCFAs\)%20and%20gases](https://www.bmj.com/content/361/bmj.k2179#:~:text=The%20gut%20microbiota%20provides%20essential,acids%20(SCFAs)%20and%20gases). Acesso em: 28 Jan. 2021.

VASILEVA, L. V. et al. Causes and solutions to “globesity”: The new fa(s)t alarming global epidemic. **Food and Chemical Toxicology**, v 121, p. 173-193, 2018.

VIECO-SAIZ, N. et al. Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food-animal production. **Front Microbiol.**, v. 10, p. 1–17, 2019.

VRIEZE, A. et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. **Gastroenterology**, v. 143, p. 913-916, 2012

WAGNER, N. R. F. et al. Effects of probiotics supplementation on gastrointestinal symptoms and SIBO after Roux-en-Y Gastric Bypass: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Obes Surg.**, v. 31, p. 143-150, 2021.

WANG, L. et al. Effect of oral consumption of probiotic *Lactobacillus planatarum* P-8 on fecal microbiota, SIgA, SCFAs, and TBAs of adults of different ages. **Nutrition**, v. 30, p. 776-783, 2014.

WANG, F. G. et al. Outcomes of Mini vs Roux-en-Y gastric by-pass: a meta-analysis and systematic review. **Int J Surg.**, v. 56, p. 7–14, 2018.

WIJAYATUNGA, N. N. et al. Roux-en-Y gastric bypass surgery alters serum metabolites and fatty acids in patients with morbid obesity. **Diabetes Metab Res Rev.**, v. 34, n. 8, p. e3045, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30003682/>. Acesso em: 23 Nov. 2020.

WINDER, W. W.; HARDIE, D. G. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. **Am J Physiol.**, v. 277, p. E1–10, 1999.

WISHART, D. S. et al. HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018. **Nucleic Acids Research**, v. 46, p. D608-D617, 2018. Disponível em: <http://www.hmdb.ca/>. Acesso em: 23 jan. 2019.

WOODARD, G. A. et al. Probiotics improve outcomes after roux-en-Y gastric bypass surgery: A prospective randomized trial. **J Gastrointest Surg.**, v. 13, p. 1198–1204, 2009.

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANIZATION (WGO). Probióticos e prebióticos. **Report**, v. 35, p. 211, 2017. Disponível em: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-portuguese-2017.pdf>. Acesso em: 10 Dez. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity**: Preventing and managing the global epidemic; report of a WHO Consultation. Technical Report Series n. 894. Geneva: World Health Organization, 2000. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42330>. Acesso em 15 Jan. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Status Report on Alcohol 2004**. 2004. Disponível em: https://www.who.int/substance_abuse/publications/globalstatusreportalcoholchapters/en. Acesso em: 10 Dez. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity and overweight in the Western Pacific**. 2018a. Disponível em: <https://www.who.int/westernpacific/health-topics/obesity>. Acesso em: 28 Jan. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Physical Activity**. 2018b. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity>. Acesso em: 28 Jan. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity and overweight**. 2020a. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Acesso em: 28 Jan. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Body Mass Index (BMI)**. 2020b. Disponível em: [https://www.who.int/data/gho/data/themes/theme-details/GHO/body-mass-index-\(bmi\)](https://www.who.int/data/gho/data/themes/theme-details/GHO/body-mass-index-(bmi)). Acesso em: 28 Jan. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Controlling the global obesity epidemic**. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/activities/controlling-the-global-obesity-epidemic>. Acesso em: 28 Jan. 2021.

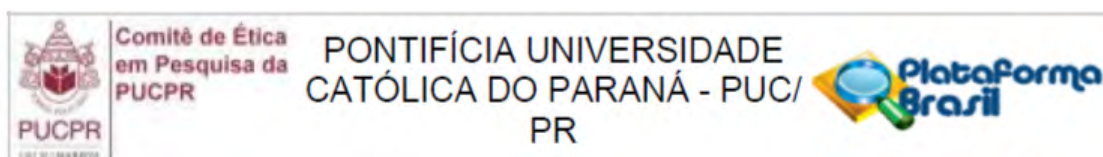
WRIGHT, S. M.; ARONNE, L. J. Causes of obesity. **Abdom Imaging**, v. 37, n. 5, p. 730–732, 2012.

XIE, N. et al. Effects of two *Lactobacillus* strains on lipid metabolism and intestinal microflora in rats fed a high-cholesterol diet. *BMC Complement Altern Med*. **BioMed Central Ltda**, v. 11, p. 53, 2011.

YAN, J.; FINE, J. Estimating equations for association structures. **Stat Med.**, v. 23, p. 859–874, 2004.

ZHANG, H. et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric by pass. **J Proc Natl Acad Sci.**, v. 106, p. 2365–2370, 2009.

ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS NA QUALIDADE DE VIDA, COMPORTAMENTO ALIMENTAR, PERFIL INFLAMATÓRIO, METABÓLICO E NUTRICIONAL DE PACIENTES NOS PÓS-OPERATÓRIO DE BYPASS GÁSTRICO EM Y-DE-ROUX: UM ESTUDO RANDOMIZADO E DUPLO-CEGO

Pesquisador: MAGDA ROSA RAMOS DA CRUZ

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa em genética do comportamento.);

Versão: 8

CAAE: 79894217.9.0000.0020

Instituição Proponente: ASSOCIACAO PARANAENSE DE CULTURA - APC

Patrocinador Principal: Bariatric Advantage - Nutritional Products
Financiamento Próprio
FARMACIA DERMATOLOGICA LTDA - EPP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.252.808

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS NA QUALIDADE DE VIDA, COMPORTAMENTO ALIMENTAR, PERFIL INFLAMATÓRIO, METABÓLICO E NUTRICIONAL DE PACIENTES NOS PÓS-OPERATÓRIO DE BYPASS GÁSTRICO EM Y-DE-ROUX: UM ESTUDO RANDOMIZADO E DUPLO-CEGO

Pesquisador: MAGDA ROSA RAMOS DA CRUZ

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa em genética do comportamento.);

Versão: 7

CAAE: 79894217.9.0000.0020

Instituição Proponente: ASSOCIACAO PARANAENSE DE CULTURA - APC

Patrocinador Principal: Bariatric Advantage - Nutritional Products
Financiamento Próprio
FARMACIA DERMATOLOGICA LTDA - EPP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.080.242

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.080.242

| | | | | |
|--|------------------------------|------------------------|-----------------------------|--------|
| Básicas do Projeto | _E3.pdf | 17:13:16 | | Aceito |
| Folha de Rosto | Folharostatualizada2020.docx | 30/03/2020 16:46:19 | Magda Rosa Ramos da cruz | Aceito |
| Outros | EMENDA3.docx | 06/06/2019 15:50:48 | Magda Rosa Ramos da cruz | Aceito |
| Outros | TCUD.pdf | 05/11/2017 14:11:57 | Magda Rosa Ramos da cruz | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | AutorizacaoSantaCasa.pdf | 05/11/2017 14:06:06 | Magda Rosa Ramos da cruz | Aceito |

Situação do Parecer:

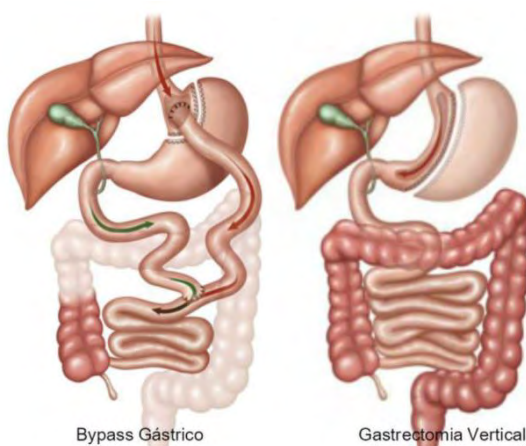
Aprovado

BRASILIA, 10 de Junho de 2020

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

ANEXO 2 – PROTOCOLO DA EVOLUÇÃO DA DIETA E SUPLEMENTAÇÃO

Orientação Nutricional Pós-operatório de Gastroplastia



FASE 1 (hospital)

Consistência da dieta: LÍQUIDA RESTRITA

Duração: 1º e 2º dia de pós operatório

Quantidade: 50 ml

Horário das refeições: intervalos de no máximo 2 horas (8 refeições/dia)

Alimentos permitidos: chás claros (ervas), água, sucos de fruta natural diluído (exceto frutas ácidas), gelatina diet, água de coco, caldo de frango/peixe ou vegetais.

Observações importantes: nesta fase, a dieta líquida tem por objetivo repouso gástrico e hidratação. Estes dois dias de início de dieta serão realizados no **hospital**.

FASE 2 (após alta)

Consistência da dieta: alimentos LÍQUIDOS/COADOS

Duração: 10 dias

Quantidade: 50 ml

Horário das refeições: intervalos de no máximo 2 horas (8 refeições/dia)

Alimentos permitidos: alimentos permitidos na FASE 1, além de outros líquidos como leite sem lactose ou de soja e caldo de sopa coado.

Observações importantes: nesta fase, a dieta líquida tem por objetivo repouso do gástrico e hidratação. Portanto, nos intervalos das refeições ingerir **água, água de coco e chás claros sem açúcar**. Tomar os líquidos em pequenos goles, ingerindo um total de 1500ml de líquidos ao dia.

Sugestão de cardápio FASE 2

| Hora | Alimentos |
|------|---|
| 08h | Leite desnatado sem lactose |
| 10h | Gelatina diet |
| 12h | Sopa de carne com legumes coado (caldo) – variar os ingredientes |
| 14h | Iogurte desnatado diluído |
| 16h | Suco de frutas natural sem açúcar |
| 18h | Iogurte diet diluído |
| 20h | Canja coada |
| 22h | Gelatina diet |

FASE 3

Consistência da dieta: PASTOSOS (LIQUIDIFICADOS E PENEIRADOS)

Duração: 10 dias

Quantidade: 80 ml ou 1 e 1/2 colheres de sopa

Horário das refeições: intervalos de no máximo 3 horas (6 refeições/dia)

Alimentos permitidos: alimentos permitidos na FASE 1 e 2, além de vitamina de frutas, iogurte, pudim/flan diet, café descafeinado, creme de batata ou legumes, mingau cremoso, polenta cremosa, sopa liquidificada e peneirada (com carne bovina ou frango), gelatina diet.

Observações importantes: Mantenha nos intervalos das refeições ingerir **água, água de coco e chás claros sem açúcar**. Tomar os líquidos em pequenos goles, ingerindo um total de 1500ml de líquidos ao dia.

Sugestão de cardápio FASE 3

| Hora | Alimentos | Substituição |
|------|------------------------------------|--|
| 08h | Iogurte de frutas desnatado | Mingau Cremoso (aveia, arroz, maisena) |
| 10h | Suplemento proteico | Flan diet ou suco de frutas |
| 12h | Frango triturado + Polenta cremosa | Sopa batida (com carne e legumes) |
| 15h | Vitamina de frutas | Iogurte natural desnatado ou suplemento proteico |
| 18h | Sopa de carne com legumes batida | Creme de abóbora + frango triturado |
| 21h | Gelatina diet | Suco de frutas |

FASE 4**Consistência da dieta:** SEMI SÓLIDA**Duração:** 10 dias**Quantidade:** 120ml ou 2 e 1/2 colheres de sopa**Horário das refeições:** intervalos de no máximo 3 horas (6 refeições/dia)**Alimentos permitidos:** alimentos já permitidos na FASE 1, 2 e 3, além de fruta amassada/raspada, sopa batida, purê de batata ou legumes, legumes cozidos e amassados, carne bem moída, frango desfiado/triturado**Observação:** Mantenha nos intervalos das refeições ingerir **água, água de coco e chás claros sem açúcar**. Tomar os líquidos em pequenos goles, ingerindo um total de 1500ml de líquidos ao dia.**Nessa fase é essencial mastigar muito bem os alimentos.****Sugestão de cardápio FASE 4**

| Hora | Alimentos | Substituição |
|------|----------------------------------|--------------------------------------|
| 08h | Banana amassada | Vitamina de frutas |
| 10h | Suco de frutas | Gelatina diet ou suplemento proteico |
| 12h | Cenoura cozida e frango desfiado | Sopa de carne com legumes |
| 15h | Suplemento proteico | Mamão amassado ou suco de frutas |
| 18h | Sopa de carne com legumes | Batata amassada + Carne moída |
| 21h | iogurte diet | Suco de frutas |

FASE 5**Consistência da dieta:** BRANDA**Duração:** até retorno com nutricionista**Quantidade:** 150ml ou 3 colheres de sopa**Horário das refeições:** intervalos de no máximo 3 horas (6 refeições/dia)**Alimentos permitidos:** alimentos já permitidos na FASE 1, 2, 3 e 4, além de legumes cozidos, carne/frango bem cozidos, batata, macarrão, pão de leite, sopa bem cozida sem bater ou coar**Observação:** Mantenha nos intervalos das refeições ingerir **água, água de coco e chás claros sem açúcar**. Tomar os líquidos em pequenos goles, ingerindo um total de 1500ml de líquidos ao dia

Sugestão de cardápio FASE 5

| Hora | Alimentos | Substituição |
|-------|--|---|
| 08h | 1 ovo mexido + chá | 1 bisnaguinha + 50ml de leite desnatado |
| 10h | Fruta | Suplemento proteico |
| 12h | Carne, verduras cozidas, arroz e feijão (1 colher de sopa de cada) | Sopa de carnes com legumes |
| 15h | Suplemento proteico | Fruta ou iogurte |
| 18h | Sopa de carnes com legumes | Frango, cenoura, couve (1 colher de sopa de cada) |
| 21hrs | Iogurte | Gelatina diet ou fruta |

Após os primeiros 40 dias, manter os alimentos permitidos da **fase 5**, sendo liberado (conforme tolerância) a inclusão de vegetais crus, sem casca, semente ou bagaço (exemplos: alface, acelga, repolho, tomate sem sementes, pepino sem semente, maçã sem casca, mamão, banana, melão, pêra, morango). **ATENÇÃO PARA MASTIGAÇÃO!!**

Alimentos proibidos em todas as fases: temperos industrializados, café, chá mate/preto, refrigerantes, bebidas alcoólicas, alimentos gordurosos e hipercalóricos (leite condensado, milk shake, pudim, sorvete), doces de maneira geral, frutas ácidas, pimenta, açúcar, mel, melado, açúcar light, caldo de cana, industrializado pó (sopas, caldos, sucos),

Após 30 dias de pós-operatório, deverá ser feito o primeiro retorno com nutricionista. Portanto, após confirmação da data da cirurgia, já deixe agendada a sua consulta com a nutrição, para evitar atrasos e transtorno.

Suplemento protéico

Desde a primeira semana de pós operatório, é importante o consumo da **suplementação protéica**. A quantidade de suplemento a ser consumida depende de indivíduo para indivíduo. Siga as orientações de seu nutricionista.

| SUPLEMENTO | FASE 3 (80ml) | FASE 4 (120ml) | FASE 5 (150ml) |
|--------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| Isofort | 2 medidas | 3 medidas | 4 medidas |
| Iso Clean Protein - Nutra | 1,5 medidas | 2,5 medidas | 3 medidas |
| Whey protein Belt nutrition | 1 medida | 1,5 medidas | 2 medidas |

SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINAS E MINERAIS

É prescrito o uso da suplementação de vitaminas e minerais a partir de 20 dias de cirurgia. O uso deverá ser diário e a quantidade de cápsulas dependerá da prescrição da Nutricionista, a qual será responsável pelo ajuste de acordo com a marca escolhida e necessidade individual do paciente. A composição dos principais suplementos recomendados encontra-se a seguir:

COMPOSIÇÃO

DAMATER[®]:

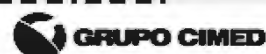
Cada cápsula gelatinosa contém:

| Substância ativa | Quantidade | %IDR gestantes | %IDR lactantes |
|---|------------|----------------|----------------|
| Vitamina A (betacaroteno) | 2700 UI | 101,00% | 95,00% |
| Vitamina D (colecalfiferol) | 400 UI | 200,00% | 200,00% |
| Vitamina E (acetato de racealfatocoferol) | 30 mg | 300,00% | 300,00% |
| Vitamina C (ácido ascórbico) | 70 mg | 127,00% | 100,00% |
| Vitamina B1 (nitrato de tiamina) | 3 mg | 214,00% | 200,00% |
| Vitamina B2 (riboflavina) | 2 mg | 142,00% | 125,00% |
| Vitamina B6 (cloridrato de piridoxina) | 2,2 mg | 116,00% | 110,00% |
| Vitamina B12 (cianocobalamina) | 3 mcg | 115,00% | 107,00% |
| Ácido Fólico | 2 mg | 563,00% | 678,00% |
| Ferro (fumarato ferroso) | 30 mg | 111,00% | 200,00% |
| Zinco (óxido de zinco) | 15 mg | 136,00% | 158,00% |
| Cálcio (carbonato de cálcio) | 100 mg | 8,00% | 10,00% |

Excipientes: óleo de soja, Softisan 378 (mistura de glicerídeos de ácidos graxos saturados), lecitina de soja e simeticona.

Componentes da cápsula gelatinosa mole: gelatina, sorbitol, água purificada, glicerol, metilparabeno, propilparabeno, corante amarelo crepúsculo FD&C n°6, corante vermelho Ponceau FD&C n°4R, corante azul brilhante FD&C n°1, dióxido de titânio.

LAVITAN



Polivitamínico, Poliminerais e Poliaminoácidos

USO ADULTO - USO ORAL

FORMA FARMACÊUTICA E APRESENTAÇÃO:

Drágeas: embalagens com 30, 50 e 100 drágeas

FÓRMULA:

Cada drágea de LAVITAN contém:

| | | | %* |
|---------------|---------------------------------|-----------|-----|
| vitamina A | (retinol) | 2000 UI | 100 |
| vitamina B1 | (como cloridrato de tiamina) | 1,16 mg | 97 |
| vitamina B2 | (riboflavina) | 1,30 mg | 100 |
| vitamina B5 | (como pantotenato de cálcio) | 4,60 mg | 92 |
| vitamina B6 | (como cloridrato de piridoxina) | 0,41 mg | 32 |
| vitamina B12 | (cianocobalamina) | 3,0 mcg | 125 |
| vitamina C | (ácido ascórbico) | 65,0 mg | 144 |
| vitamina D | (como colecalciferol) | 400 UI | 200 |
| ferro | (como sulfato ferroso) | 10,0 mg | 71 |
| lisina | | 10,0 mg | - |
| niacina | (como nicotinamida) | 13,10 mg | 82 |
| magnésio | (como sulfato de magnésio) | 5,0 mg | 2 |
| manganês | (como sulfato de manganês) | 3,0 mg | 130 |
| treonina | | 10,0 mg | - |
| triptofano | | 10,0 mg | - |
| zinco | (como sulfato de zinco) | 2,0 mg | 29 |
| Excipientes** | | qsp 1 drg | |

* Teor percentual do componente na posologia máxima indicada na bula (1 drágea ao dia) relativo à Ingestão Diária Recomendada para adultos (IDR).

** álcool etílico, amido, amidoglicolato de sódio, estearato de magnésio, lactose, fosfato de cálcio tribásico, metilparabeno, celulose microcristalina, povidona, propilparabeno, sacarose, álcool isopropílico, água deionizada, carbonato de cálcio, cera de carnaúba, goma laca, óleo de ricino, cera de abelha amarela, corante vermelho ponceau, goma arábica e talco farmacêutico.

ULTRA MULTI COM FERRO (BARIATRIC ADVANTAGE®)

| Ingredient | Amount Per Serving | % Daily Value |
|---|--------------------|---------------|
| Vitamin A (from mixed carotenoids and retinyl acetate) | 3,000 mcg | 600% |
| Vitamin C (as ascorbic acid) | 120 mg | 120% |
| Vitamin D (as cholecalciferol) | 3,000 IU | 600% |
| Vitamin E (as d-alpha tocopheryl succinate) | 20.1 mg | 402% |
| Vitamin K (as phytonadione) | 300 mcg | 250% |
| Thiamin (as thiamin HCl) | 50.1 mg | 4,175% |
| Riboflavin | 3.4 mg | 262% |
| Niacin (as niacinamide) | 50 mg | 313% |
| Vitamin B ₆ (as pyridoxine HCl) | 4 mg | 135% |
| Folate | 800 mcg | 200% |
| Vitamin B ₁₂ (as methylcobalamin) | 1,000 mcg | 41,667% |
| Biotin | 600 mcg | 2,000% |
| Pantothenic Acid (as calcium D-pantothenate) | 20 mg | 400% |
| Choline (as choline bitartrate) | 11 mg | 2.2% |
| Iron (as ferrous fumarate) | 45 mg | 250% |
| Iodine (as potassium iodide) | 150 mcg | 100% |
| Magnesium (as magnesium oxide and magnesium glycinate) | 400 mg | 95% |
| Zinc (as zinc glycinate) | 20.1 mg | 182% |
| Selenium (as selenomethionine) | 70 mcg | 127% |
| Copper (as copper citrate) | 2.1 mg | 250% |
| Manganese (as manganese citrate) | 2 mg | 67% |
| Chromium (as chromium picolinate) | 120 mcg | 343% |
| Molybdenum (as molybdenum aspartate complex) | 75 mcg | 167% |
| Potassium (as potassium bicarbonate) | 99 mg | 22% |
| Decaffeinated* Green Tea (<i>Camellia sinensis</i>) Leaf Extract [standardized to 60% catechins and 40% epigallocatechingallate (EGCG)] | 30 mg | * |
| Pomegranate (<i>Punica granatum</i> L.) Whole Fruit Extract Powder | 60 mg | * |
| Inositol | 10 mcg | * |

APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Pág. 1/3

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do estudo “ EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS NA QUALIDADE DE VIDA, COMPORTAMENTO ALIMENTAR, PERFIL INFLAMATÓRIO, METABÓLICO E NUTRICIONAL DE PACIENTES NOS PÓS-OPERATÓRIO DE BYPASS GÁSTRICO EM Y-DE-ROUX: UM ESTUDO RANDOMIZADO E DUPLO” que tem como objetivo identificar os efeitos da suplementação com probióticos em parâmetros nutricionais (perda de peso, redução de gordura corporal, redução de sintomas gastrointestinais e alergias alimentares, modificação de comportamento alimentar), perfil metabólico (melhor dos níveis de lipídios no sangue, assim como resistência à insulina, níveis de vitamina D no tecido adiposo, expressão de genes e produtos resultantes do metabolismo associados à obesidade), marcadores inflamatórios e na qualidade de vida. Acreditamos que esta pesquisa seja importante porque a partir dos resultados, poderão ser instituídos protocolos ou medidas que visem a maximização da perda ponderal, melhora clínica, metabólica e nutricional dos pacientes submetidos à cirurgia bariátrica.

PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Para sua participação no referido, você deverá estar disponível para participar das consultas estabelecidas pela equipe, as quais serão realizadas no mesmo local onde você já está realizando acompanhamento – Hospital Santa Casa de Misericórdia – Curitiba/PR. Durante essas consultas sua participação será: responder aos questionamentos sobre seus dados demográficos e clínicos (idade, sexo, tempo de obesidade, uso de medicamentos, história mórbida familiar, história atual, tratamentos prévios para emagrecimento, atividades de rotina, informações relativas à sua alimentação, saúde e sintomas gastrointestinais); autorizar a coleta de sangue para exames bioquímicos e genéticos (Essa coleta será realizada durante a consulta, por profissional capacitado, minimizando os riscos de ferimentos ou contaminação) e coleta de dados antropométricos (peso, altura, circunferência abdominal e circunferência do pescoço). Serão selecionados 20 pacientes para realização de exames adicionais que necessitam da coleta de fezes (esse material será encaminhado para análise genética das bactérias presentes nas fezes, assim como produtos do metabolismo). Sua adesão ao tratamento será avaliada por telefonemas semanais (1x/semana) que serão realizados pelos integrantes da equipe, do início do uso do comprimido até o a última semana do uso, no total de aproximadamente 13 ligações.

RISCOS E BENEFÍCIOS

Através deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido você está sendo alertado de que, da pesquisa a se realizar, pode esperar alguns benefícios, tais como: melhora de sintomas gastrointestinais como redução de azia, gases, cólicas, inchaço e barulhos abdominais. Bem como, também que é possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos em sua participação, tais como dor, hematoma ou, outro desconforto no local da coleta do sangue. Raramente, desmaio ou infecções no local da punção podem ocorrer. Para minimizar tais riscos, nós pesquisadores tomaremos as seguintes medidas: você realizará a coleta de sangue em um local apropriado (dentro do Hospital Santa Casa de Misericórdia), o qual conta com uma equipe especializada para essa função. O fato de haver coleta de dados antropométricos e aplicação dos questionários também poderá causar certo constrangimento. Portanto, os pesquisadores asseguram que tais etapas serão realizadas em salas individuais, havendo sigilo da sua identificação pessoal durante toda fase de pesquisa e publicação. O teste respiratório de hidrogênio exige a ingestão de glicose diluída. Estudos têm mostrado que na quantidade utilizada, não há risco de síndrome de dumping, entretanto poderá haver algum desconforto intestinal como diarreia ou flatulência (excesso de gases). Para evitar qualquer risco, o exame será realizado dentro do hospital. Serão repassadas informações e haverá local específico para coleta das fezes, minimizando risco de constrangimento ou contaminação do material coletado.

Riscos associados à coleta de tecido adiposo são esperados quando se realizam procedimentos específicos para essa finalidade, no entanto, no seu caso a coleta será realizada durante a cirurgia, pré-agendada e sem nenhum preparo específico para essa coleta. Dessa forma, os riscos são os mesmos já levantados e discutidos para a cirurgia. Como parte do protocolo do hospital, todos os riscos cirúrgicos serão repassados para você pelo cirurgião.

RUBRICA DO SUJEITO DE PESQUISA

RUBRICA DO PESQUISADOR

Além disso, em casos de complicações, o Hospital conta com uma equipe e estrutura especializada para seu atendimento.

O uso do probióticos pode ocasionar efeitos adversos leves no início do tratamento, tais como: diarreia, cólicas, náuseas e distensão abdominal. Caso algum sinal ou sintoma apareça no período do estudo, você deve informar aos pesquisadores para que receba o tratamento adequado. Não é recomendado o manuseio da ferida ou troca de curativo após a manipulação do comprimido pois o mesmo pode conter bactérias. Sendo assim, após o manuseio do comprimido você deverá sempre higienizar as mãos, conforme orientação repassada pelas pesquisadoras.

Os resultados e benefícios do tratamento poderão ser sentidos durante o estudo, no entanto, a comprovação dos benefícios gerais virá apenas ao final da pesquisa. Havendo benefícios superiores ao protocolo habitual, você continuará recebendo os probióticos até o final do tratamento, de acordo com o estipulado pela equipe responsável pelo seu acompanhamento médico.

Se for comprovado que o uso de probióticos possui resultados benéficos após a realização da cirurgia bariátrica, o uso do mesmo será incluído no protocolo de atendimento de nutrição do Hospital, sendo um benefício à comunidade que realiza acompanhamento no Hospital.

SIGILO E PRIVACIDADE

Nós pesquisadores garantiremos a você que sua privacidade será respeitada, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, lhe identificar, será mantido em sigilo. Nós pesquisadores nos responsabilizaremos pela guarda e confidencialidade dos dados, bem como a não exposição dos dados de pesquisa.

AUTONOMIA

Nós lhe asseguramos a assistência durante toda pesquisa, bem como garantiremos seu livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que você queira saber antes, durante e depois de sua participação. Também informamos que você pode se recusar a participar do estudo, ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerá qualquer prejuízo à assistência que vem recebendo.

RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO

Todos os exames e entrevistas serão realizados nos dias de suas consultas de rotina com a equipe. Ressalta-se que você não terá custos para a realização dos exames, ou seja, todos os exames serão pagos pelos pesquisadores.

De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente de sua participação no estudo, você será devidamente indenizado, conforme determina a lei.

CONTATO

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são Marília Rizzon Zaparolli, Nathália Farinha, Magda Rosa Ramos da Cruz, Antônio Carlos Ligocki Campos e com eles você poderá manter contato pelos telefones: Marília – (41) 99687-6677, Nathalia – (41) 99935-2165, Magda – (41) 98874-6754, (41) 99973-0300.

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) é composto por um grupo de pessoas que estão trabalhando para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Se você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR (CEP) pelo telefone (41) 3271-2292 entre segunda e sexta-feira das 08h00 às 17h30 ou pelo e-mail nep@pucpr.br.

RUBRICA DO SUJEITO DE PESQUISA

RUBRICA DO PESQUISADOR

DECLARAÇÃO

Declaro que li e entendi todas as informações presentes neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tive a oportunidade de discutir as informações deste termo. Todas as minhas perguntas foram respondidas e eu estou satisfeito com as respostas. Entendo que receberei uma via assinada e datada deste documento e que outra via assinada e datada será arquivada nos pelo pesquisador responsável do estudo.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

| Dados do participante da pesquisa | |
|-----------------------------------|--|
| Nome: | |
| Telefone: | |
| e-mail: | |

Curitiba, _____ de _____ de _____.

Assinatura do participante da pesquisa

Assinatura do Pesquisador

RÚBRICA DO SUJEITO DE PESQUISA

RÚBRICA DO PESQUISADOR

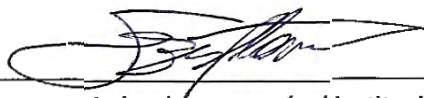
APÊNDICE 2 – AUTORIZAÇÃO DO HOSPITAL

AUTORIZAÇÃO

Eu Eduardo Otoni, abaixo assinado diretor geral do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Curitiba, autorizo a realização do estudo *“Efeitos da suplementação com probióticos na qualidade de vida, perfil inflamatório, metabólico e nutricional de pacientes no pós-operatório imediato de Bypass Gástrico em Y-de-Roux: um estudo randomizado e duplo cego”*, a ser conduzido pelos pesquisadores abaixo relacionados. Fui informado pelo responsável do estudo sobre as características e objetivos da pesquisa, bem como das atividades que serão realizadas na instituição a qual represento.

Fui informado que serei informado sobre o parecer ético emitido pelo CEP da instituição proponente, e com isso, conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 466/12 e/ou CNS 510/16. Esta instituição está ciente de suas corresponsabilidades como instituição coparticipante do presente projeto de pesquisa e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem-estar.

Curitiba, 11 de setembro de 2017.



Assinatura e carimbo do responsável institucional

Eduardo Bistratini Otoni
CRA 78196 - Diretor Executivo
Hospital Santa Casa de Curitiba

LISTA NOMINAL DE PESQUISADORES:

MAGDA ROSA RAMOS DA CRUZ

MARÍLIA RIZZON ZAPAROLLI

NATHALIA RAMORI FARINHA WAGNER

ANTÔNIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS